

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

**Charakterisierung obstruktiver Atemwegserkrankungen im
Kindesalter im Vergleich zu gesunden Kontrollen anhand der
Messung flüchtiger organischer Verbindungen in der Ausatemluft
mittels einer elektronischen Nase (eNose)**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Lea Sophia Samija

aus München

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatlerin: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Erika von Mutius

Mitberichterstatler/innen: Prof. Dr. med. Andrea Koch
Prof. Dr. rer. nat. Markus Rehberg

Mitbetreuung durch die
promovierten Mitarbeiterinnen: Dr. med. Nicole Maison
Dr. rer. med. Sabina Illi

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 30.07.2020

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Obstruktive Atemwegserkrankungen im Kindesalter	1
1.1.1	Definitionen und Epidemiologie	1
1.1.2	Asthma bronchiale	2
1.1.3	<i>Wheeze</i> in den ersten sechs Lebensjahren	4
1.1.4	Phänotypen	6
1.1.4.1	Atopisches und nicht-atopisches Asthma	7
1.1.4.2	<i>Episodic viral wheeze</i> und <i>multi-trigger wheeze</i>	8
1.1.5	Offene Fragen	8
1.2	Flüchtige Organische Verbindungen (Volatile Organic Compounds, VOCs)	9
1.2.1	Definition	9
1.2.2	VOCs in der Ausatemluft – Herkunft und Entstehung	10
1.2.3	VOC-Messungen	11
1.3	VOCs in der Ausatemluft und ihre Bedeutung in der Medizin	14
1.3.1	VOC-Analyse als diagnostisches Mittel	14
1.3.2	<i>Breathomics</i> in der Diagnostik von Asthma und <i>wheeze</i>	15
1.4	ALLIANCE-Kohorte und KIRA-Studie	17
2	Zielsetzung	20
3	Material und Methoden	22
3.1	Studienpopulation	22
3.2	Materialgewinnung und Datenerhebung	23
3.2.1	Gewinnung von Ausatemluft	23
3.2.2	Fragebögen	25
3.2.3	Klinische Untersuchung	26
3.2.4	Lungenfunktionsmessungen	26
3.2.5	Allergie-Test	27
3.3	Analyse mittels einer elektronischen Nase (eNose)	27

3.4	Datenverarbeitung und statistische Auswertung	29
3.5	Geräte und Verbrauchsmaterialien.....	31
3.5.1	Setup zur Materialgewinnung	31
3.5.2	Setup zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumluft.....	32
3.5.3	Software	33
3.5.4	Verbrauchsmaterialien	34
3.6	Reinigung der Setups.....	34
4	Ergebnisse	35
4.1	Definitionen der Studiengruppen	35
4.2	Beschreibung der Studienpopulation	37
4.3	Analysen in der Übersicht.....	39
4.4	Sensorsignale	41
4.4.1	Fälle versus gesunde Kontrollen.....	42
4.4.2	Asthmatiker versus gesunde Kontrollen.....	43
4.4.3	<i>Wheeze</i> versus gesunde Kontrollen	44
4.4.4	<i>Episodic viral wheeze</i> versus <i>multi-trigger wheeze</i>	45
4.4.5	Einfluss möglicher Störgrößen.....	46
4.4.5.1	Geschlecht.....	46
4.4.5.2	Alter	46
4.4.5.3	Gewicht.....	48
4.4.6	Unterschiede nach Altersadjustierung.....	48
4.4.6.1	Fälle versus gesunde Kontrollen	48
4.4.6.2	Asthmatiker versus gesunde Kontrollen	48
4.4.6.3	<i>Wheeze</i> versus gesunde Kontrollen.....	49
4.4.6.4	<i>Episodic viral wheeze</i> versus <i>multi-trigger wheeze</i>	49
4.4.6.5	Geschlecht, Alter, Gewicht.....	49
4.4.7	Zusammenfassung	50
4.5	Hauptkomponentenanalyse und lineare Diskriminanzanalyse	50
4.5.1	Fälle versus gesunde Kontrollen.....	51

III

4.5.1.1	Einschluss des gesamten Datensatzes	51
4.5.1.2	Paarbildung anhand von Alter und Geschlecht	58
4.5.2	Asthmatiker versus gesunde Kontrollen.....	59
4.5.2.1	Einschlussdiagnose Asthma	59
4.5.2.2	Zusätzlicher Einschluss von drei Kindern mit potenzieller Asthmadiagnose	60
4.5.2.3	Stratifizierung nach der Therapie mit inhalativen Corticosteroiden ..	60
4.5.3	<i>Wheeze</i> versus gesunde Kontrollen	61
4.5.4	<i>Episodic viral wheeze</i> versus <i>multi-trigger wheeze</i>	61
4.5.4.1	Einschlussdiagnose <i>wheeze</i>	61
4.5.4.2	Kinder unter sechs Jahren mit <i>wheeze</i>	63
4.5.5	Atopie	65
4.5.5.1	Atopisches versus nicht-atopisches Asthma	65
4.5.5.2	Atopisches versus nicht-atopisches <i>wheeze</i>	66
4.5.5.3	Atopische versus nicht-atopische Fälle	67
4.5.6	Asthma-Schweregrad	67
4.5.6.1	Dauertherapie mit inhalativen Corticosteroiden	67
4.5.6.2	Tiffeneau-Index	68
4.5.6.3	Grad der Asthmakontrolle nach GINA-Kriterien.....	70
4.5.7	Rauchen im Haushalt	71
5	Diskussion	74
5.1	Methoden	75
5.1.1	Machbarkeit (<i>feasibility</i>)	75
5.1.2	Technische und methodische Herausforderungen.....	76
5.1.2.1	Gewinnung von Ausatemluft	77
5.1.2.2	Technische Aspekte.....	80
5.1.2.3	Potenzielle individuelle Störfaktoren.....	81
5.1.2.4	Datenanalyse	84
5.2	Ergebnisse	86
5.2.1	Diagnosestellung Asthma bzw. <i>wheeze</i>	86

5.2.2	<i>Episodic viral wheeze versus multi-trigger wheeze</i>	90
5.2.3	Atopie	94
5.2.4	Asthma-Schweregrad	95
5.3	Limitationen und Stärken	98
5.4	Schlussfolgerung	99
6	Zusammenfassung	100
7	Literaturverzeichnis	102
8	Anhang	118
8.1	Abkürzungsverzeichnis	118
8.2	Abbildungsverzeichnis	119
8.3	Tabellenverzeichnis	122
8.4	Ergebnisformular	123

1 Einleitung

1.1 Obstruktive Atemwegserkrankungen im Kindesalter

1.1.1 Definitionen und Epidemiologie

Ungefähr ein Drittel aller Kinder erleidet in den ersten drei Lebensjahren mindestens einen Anfall von pfeifender Atmung und bis zum sechsten Geburtstag sind es sogar 40-50 % [1, 2]. In der englischsprachigen Literatur wird diese Atmung, die typisch für obstruktive Atemwegserkrankungen ist, als *wheeze* bezeichnet [2-4] (englisch für „pfeifend atmen, keuchen“ [5]). *Wheeze* beschreibt einen „kontinuierlichen hochfrequenten Ton mit musikalischer Qualität[, der] während der Expiration aus dem Brustkorb [abgegeben wird]“ [3] und stellt das häufigste Leitsymptom für kindliches Asthma dar [6]. Das Vorhandensein von *wheeze* ist demnach ein ernstzunehmendes Symptom, darf jedoch nicht mit Asthma gleichgestellt werden und damit automatisch zu der Diagnosestellung eines Asthma bronchiale führen [7].

Lange wurde davon ausgegangen, dass Asthma eine einheitliche Krankheitsentität darstellt. Zunehmend verbreitet sich jedoch die Erkenntnis, dass es sich bei dem, was wir allgemein als Asthma bezeichnen, um eine heterogene Gruppe von verschiedenen Unterformen handelt. Diese präsentieren sich zwar klinisch ähnlich, Erkrankungsmuster, Verläufe und Pathomechanismen variieren jedoch deutlich. [8-12]

Die *Global Initiative of Asthma (GINA)* definiert Asthma wie folgt:

“Asthma ist eine heterogene Erkrankung, [die] in der Regel durch eine chronische Atemwegsentzündung charakterisiert ist. Sie ist definiert durch [...] respiratorische Symptome wie *wheeze*, Atemnot, thorakales Engegefühl und Husten, die zeitlich und in der Intensität variieren, zusammen mit variabler Einschränkung des expiratorischen Atemflusses.“ [13]

Andere Definitionen beschreiben zusätzlich meist das Vorhandensein einer bronchialen Hyperreagibilität [14-16]. Die deutsche *Nationale VersorgungsLeitlinie* empfiehlt, die Diagnose eines Asthmas erst ab dem sechsten Geburtstag zu stellen, da es aufgrund der häufig nur vorübergehenden Symptomatik vor dem Schulalter zu früh wäre, bereits von Asthma zu sprechen [14]. Vor diesem Hintergrund ist in der Literatur der Begriff *Asthma* für Kinder vor dem Schulbeginn weitgehend durch *preschool wheeze* ersetzt worden [3, 17-19].

Obwohl nur ein Teil der Kinder mit *wheeze* in den ersten sechs Lebensjahren im Verlauf auch im späteren Kindes- und Jugendalter an Asthma leidet, ist die Prävalenz dafür dennoch hoch. Laut der *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)* lag die Asthmaprävalenz in den Jahren 2000 bis 2003 in Westeuropa bei ca. 10 % im Grundschulalter (6 bis 7 Jahre) und bei fast 15 % unter den 13- bis 14-Jährigen [20, 21]. Somit stellt Asthma die häufigste chronische Erkrankung im Kindesalter [22] und eine wesentliche Belastung sowohl für die Patienten, als auch für das Gesundheitssystem dar [6, 23]. Im Kindesalter führt unbehandeltes bzw. nicht ausreichend therapiertes Asthma häufig zu Fehltagen in der Schule, Schlafstörungen und Einschränkungen der Lebensqualität [24-26].

1.1.2 Asthma bronchiale

Menschen jeglichen Alters leiden an Asthma, jedoch scheint der Ursprung meist auf die frühe Kindheit zurückzuführen zu sein [27, 28]. Obwohl bezüglich der genauen Mechanismen, die zur Asthmaentstehung beitragen, weiterhin viele Fragen offen bleiben, wird davon ausgegangen, dass komplexe Wechselwirkungen (epi-) genetischer Prädispositionen und individueller Umweltexpositionen, wie z. B. Zigarettenrauch, Allergene oder virale Erreger, eine entscheidende Rolle spielen [29-32]. Asthmaentstehung, Aufrechterhaltung der Atemwegsentszündung und anschließende Umbauvorgänge und Remodeling sind gekennzeichnet durch dysregulierte Immunantworten auf Viren und Allergene, epitheliale und ziliäre Dysfunktionen, verdickte Basalmembranen, eine Zerstörung des Epithels, entzündliche Infiltrate und eine Hypertrophie der bronchialen glatten Muskulatur [33-36].

Asthma im Kindesalter und bei Erwachsenen präsentiert sich klinisch sehr ähnlich, wobei in den rezidivierenden Asthmaanfällen meist das pfeifende oder keuchende Atemgeräusch, begleitet von Dyspnoe und/oder Husten, im Vordergrund steht [37, 38]. Potenzielle Auslöser sind vielfältig und beinhalten virale und bakterielle Erreger, saisonale und perenniale Allergene, körperliche Anstrengung, emotionale Reaktionen wie Lachen oder Weinen, kalte Luft sowie irritative Stoffe, wie z. B. Staub und Zigarettenrauch [17, 39].

Aktuell existiert kein Goldstandard für die Diagnose eines Asthma bronchiale, sondern sie wird entsprechend der bereits beschriebenen Definition der GINA [13] klinisch in der Zusammenschau aus ausführlicher Anamnese, körperlicher Untersuchung, Lungenfunktionsmessungen und Allergiediagnostik gestellt [13, 14, 37, 40]. Typisch ist der Nachweis einer reversiblen Atemwegsobstruktion in der Spirometrie, die sich nach der Inhalation von Bronchodilatoren deutlich bessert [14]. Da die Symptomatik bei

Asthma typischerweise nur intermittierend auftritt, kann in symptomfreien Zeiten oder bei milder Symptomatik der Nachweis einer bronchialen Obstruktion vollständig fehlen. Mittels Provokationstest (z. B. mit Methacholin oder durch körperliche Anstrengung) ist dann die Untersuchung auf eine bronchiale Hyperreagibilität möglich, wobei im Kindesalter meist körperliche Bewegung zur Provokation verwendet wird [14, 38]. Die Heterogenität der Erkrankung und die Variabilität der Symptomatik führen dazu, dass die akkurate Diagnosestellung trotz allem eine Herausforderung bleiben kann [38, 41, 42]. Zudem reichen die Ansprüche an die Diagnostik über die reine Diagnosestellung hinaus. Diese soll zusätzlich auch Informationen über den Schweregrad und potenzielle Unterformen liefern, mögliche Verlaufsparemeter für das weitere Monitoring aufzeigen und das therapeutische Vorgehen bahnen.

Im Normalfall ist Asthma charakterisiert durch eine Atemwegsentzündung, deren Ausmaß v. a. bei der Entscheidung bezüglich des Einsatzes von antiinflammatorischer Therapie eine wichtige Rolle spielt [43]. Obwohl grundsätzlich mit der Bronchoskopie inklusive bronchoalveolärer Lavage und Biopsieentnahme eine Methode existiert, die es erlaubt, die Atemwegsentzündung direkt und detailliert zu untersuchen, schränkt ihre Invasivität und die dafür erforderliche Expertise den routinemäßigen Einsatz gerade in der Pädiatrie deutlich ein [44-46]. Die Untersuchung von induziertem Sputum ist zwar weniger invasiv, aber aufgrund technischer Schwierigkeiten ebenso ungeeignet in der regelmäßigen Beurteilung der Atemwegsentzündung bei Kindern mit Asthma [47]. Deshalb gewinnt die nicht-invasive Messung von fraktioniertem exhalierem Stickstoffmonoxid (FeNO, fractional exhaled nitric oxide), einem Marker für eosinophile Atemwegsinflammation zunehmend an klinischer Bedeutung [43, 48]. Obwohl gezeigt werden konnte, dass durch die Berücksichtigung der FeNO-Werte bei der Erstellung des Therapieregimes die Anzahl an Exazerbationen gesenkt werden kann [49, 50], wird in aktuellen Leitlinien aufgrund der noch unzureichenden Datenlage der Einsatz von FeNO in der Routineversorgung von Asthmatikern bisher jedoch nicht empfohlen [13, 14]. Die Entwicklung neuer, möglichst nicht- oder wenig-invasiver Methoden, die die pathophysiologischen Vorgänge an der Atemwegsmukosa widerspiegeln und damit konkrete Hinweise auf das Ausmaß und die Form der Atemwegsentzündung geben, wird dementsprechend weiterhin dringend benötigt.

Nachdem für Asthma bisher weder effektive Präventionsmaßnahmen noch eine kausale Therapie existieren, stellen die Symptomkontrolle, das Verhindern von Exazerbationen und das Aufhalten von irreversiblen Umbauvorgängen der Atemwege die entscheidenden Therapieziele dar. Aktuelle therapeutische Empfehlungen für

Asthma sind altersabhängig, berücksichtigen bisher aber kaum die individuelle klinische Präsentation der Patienten. Neben allgemeinen Maßnahmen, wie Asthmaschulungen und dem Vermeiden von Allergenen, stehen therapeutisch antiinflammatorische und antiobstruktive Medikamente (vor allem inhalative Corticosteroide (ICS) und langwirksame β_2 -Sympathomimetika) zur Verfügung, deren Einsatz anhand eines Stufenschemas und abhängig von der Schwere der Symptomatik erfolgt. Zur Durchbrechung eines akuten Anfalls erfolgt die Gabe eines kurzwirksamen inhalativen Bronchodilatators (z. B. Salbutamol), gegebenenfalls ergänzt durch systemische Glucocorticoide. Mit dem IgE-Antikörper Omalizumab steht inzwischen auch für Kinder mit schwerem allergischem Asthma eine erste zielgerichtete Therapie als Ergänzung zur Verfügung. [14, 37, 39, 51]

Die Entwicklung weiterer spezifischer Therapiemöglichkeiten, sowie die Untersuchung von Prädiktoren für das Ansprechen auf die medikamentöse Therapie sind Gegenstand der aktuellen Forschung [52]. Zur Einschätzung des Schweregrades und des Therapieerfolges wird Asthma anhand der GINA-Klassifikation in *kontrolliert*, *teilweise kontrolliert* und *unkontrolliert* eingeteilt. Bei allen Kindern sollte ein kontrolliertes Asthma angestrebt werden und dafür die Therapie bei Bedarf entsprechend angepasst werden. [13]

1.1.3 *Wheeze* in den ersten sechs Lebensjahren

Oft erleiden Säuglinge und Kleinkinder die erste Episode von *wheeze* im Rahmen einer obstruktiven Bronchitis [37]. Zu diesem Augenblick kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob dies ein einzelnes Ereignis bleiben wird, eine nur vorübergehende *wheeze*-Symptomatik oder der Beginn von anhaltendem *wheeze* und späterem Asthma ist. Von allen Kindern mit *wheeze* in den ersten drei Lebensjahren, sind im Alter von sechs Jahren fast 60 % asymptomatisch [1] und zeigen nur leichte Einschränkungen in der Lungenfunktion [53]. Ebenso kann *wheeze* aber auch erst nach dem dritten Lebensjahr als *late-onset wheeze* auftreten [1, 54]. Bleibt eine Remission aus, verändern sich im Verlauf die Auslöser für *wheeze* häufig oder es kommen neue hinzu [55].

Ein Kind mit *wheeze* innerhalb der ersten sechs Lebensjahre muss also nicht zwangsläufig im Schulalter an Asthma leiden. Obwohl es bereits Hilfsmittel, wie den *modified asthma predictive index (mAPI)* [56, 57] gibt, die eine zuverlässige Asthmad Diagnose im frühen Kindesalter erleichtern sollen, bleibt es weiterhin eine Herausforderung, den zukünftigen Verlauf von *wheeze* in der frühen Kindheit vorherzusagen und somit zwischen vorübergehender Asthma-ähnlicher Symptomatik

und einem echten frühkindlichen Asthma bronchiale zu differenzieren [58-60]. Jedoch ist gerade diese Unterscheidung klinisch äußerst relevant, damit weder Kinder mit selbstlimitierender Symptomatik übertherapiert werden, noch Kinder mit hohem Asthmarisiko zu spät die notwendige Versorgung erhalten [61-63]. Weltweit arbeiten Arbeitsgruppen an der Präzisierung und Verbesserung von Modellen, die bereits im Kleinkindalter eine absehbare Asthmadiagnose im Schulalter vorhersagen sollen [64-69]. Unter anderem ist die Diagnostik besonders in dieser Altersgruppe erschwert, da aussagekräftige Lungenfunktionsmessungen aktive Mitarbeit erfordern und somit ihre Durchführung im Säuglings- und Kleinkindalter noch nicht möglich ist. So setzt sich die *wheeze*-Diagnostik in diesem Alter aus der Sammlung klinischer Informationen durch Anamnese, Familienanamnese und körperliche Untersuchung, gegebenenfalls einer Allergietestung, der Beurteilung des Therapieansprechens und dem Ausschluss von möglichen Differentialdiagnosen zusammen [3, 62, 70, 71].

Im Gegensatz zu Asthma sind die Empfehlungen zur Therapie von *wheeze* in den ersten sechs Lebensjahren weniger eindeutig und unterliegen einem häufigeren Wandel, da Uneinigkeiten in der Diagnostik und in der Definition eine Verallgemeinerung erschweren. Jedoch steigt durch die zunehmend bessere Studienlage der Evidenzgrad der Empfehlungen zum Therapiemanagement von *wheeze* [62]. Grundsätzlich erfolgt die Verabreichung von inhalativen Medikamenten im Säuglings- und Kleinkindalter mit Hilfe von speziellen Verneblern oder Spacern¹, damit in der Lunge eine ausreichende Konzentration erreicht wird [14, 72]. Im akuten Anfall werden zur schnellen Symptomkontrolle ebenfalls oft kurzwirksame Bronchodilatoren verabreicht, die Wirksamkeit ist jedoch v. a. im Säuglingsalter unklar [73-76]. Bei *wheeze* im Rahmen eines Virusinfektes scheint auch orales Prednisolon keine signifikante Besserung zu bringen [77]. Ein systematischer Überblick von 2009 zeigte, dass die tägliche Gabe von inhalativen Corticosteroiden in vielen Studien eine signifikante Reduktion von Exazerbationen und Schwere der Symptome bringt, wenn allgemein *wheeze* in den ersten Lebensjahren betrachtet wird [78]. Dennoch muss bedacht werden, dass inhalative Corticosteroide im Kindesalter zu einer signifikanten Wachstumsreduktion führen können [79, 80]. Nachdem 2008 eine Task Force der European Respiratory Society (ERS) Therapieempfehlungen unter Berücksichtigung

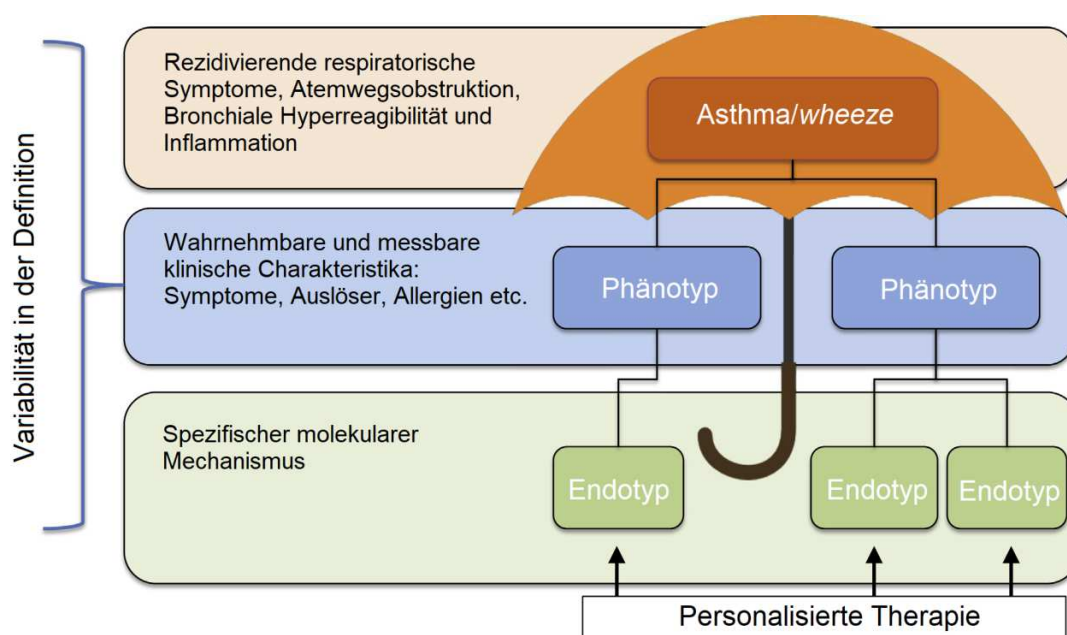
¹ Ein Spacer ist eine Vorschaltkammer, die auf den Dosieraerosolbehälter gesteckt wird und in der sich nach Auslösen des Sprühstoßes eine Wolke des Medikaments bildet, die anschließend eingeatmet werden kann. Somit müssen die Freisetzung des Wirkstoffes und die Inspiration nicht gleichzeitig erfolgen. [72]

von *wheeze*-Auslösern erstellt hatte [3], wurden diese 2014 teilweise wieder revidiert, sodass sich die Therapieentscheidung nun primär an der Schwere und der Frequenz der Symptomatik orientieren sollte. Anschließend sollte im Rahmen regelmäßiger Kontrolluntersuchungen der Therapieerfolg beurteilt werden und bei Nichtansprechen eine Unterbrechung der medikamentösen Therapie und eine Neuevaluation erfolgen. [81]

1.1.4 Phänotypen

Um die Heterogenität der Krankheitsverläufe und der zugrundeliegenden Ursachen und Pathomechanismen besser beschreiben und erforschen zu können, arbeiten Arbeitsgruppen weltweit an der Identifizierung und Definition von Asthma- und *wheeze*-Untergruppen. Unter dem Begriff *Phänotyp* versteht man ein „(durch Erbanlagen und Umwelteinflüsse geprägtes) Erscheinungsbild eines Organismus“ [82]. Demnach beschreibt er wahrnehmbare Ausprägungen und ermöglicht eine Unterscheidung von Subgruppen, die gemeinsame klinische Merkmale aufweisen [11]. Damit auch zunehmende Erkenntnisse zu zugrundeliegenden molekularen Vorgängen Berücksichtigung in der Definition finden, hat sich der Begriff *Endotyp* entwickelt, der sich auf Untergruppen bezieht, die anhand von immunologischen und pathophysiologischen Mechanismen klassifiziert werden [83, 84]. Eine zentrale Aufgabe der aktuellen Forschung ist nun die Verknüpfung von biologischen Endotypen und klinischen Phänotypen, da ein Phänotyp auch unterschiedliche Endotypen repräsentieren kann (siehe Abbildung 1) [19].

Abbildung 1: Zusammenhang zwischen Asthma bzw. *wheeze*, Phänotypen und Endotypen, übersetzt und modifiziert nach [19]



Die klinische Herangehensweise der Phänotypisierung stützt sich auf die Erhebung einer ausführlichen Anamnese, das Sammeln von klinischen Untersuchungsbefunden und die Beurteilung von Therapieansprechen. So können Phänotypen z. B. aufgrund des Alters bei Krankheitsbeginn oder der Trigger für Asthma- bzw. *wheeze*-Anfälle unterschieden werden [1, 85], wodurch sich unter anderem die im Folgenden genauer dargestellten Einteilungen von Asthma in atopisch und nicht-atopisch oder von *wheeze* in *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* ergeben. Durch die Einteilung in klinische Phänotypen sollen behandelnde Ärzte Unterstützung in der Erstellung eines individuellen Behandlungsplans und der Einschätzung des weiteren Verlaufs und der Prognose erhalten [70, 86].

Ein weiterer Ansatz für die Untersuchung von Phänotypen bedient sich primär epidemiologischer Methoden, mit denen bei retrospektiver Betrachtung des zeitlichen Verlaufs eine objektive Einteilung in Untergruppen vorgenommen werden kann [87, 88]. Aufgrund des retrospektiven Charakters ist die Integration dieser Phänotypen in die klinische Versorgung jedoch eingeschränkt.

1.1.4.1 Atopisches und nicht-atopisches Asthma

Bereits vor mehr als 70 Jahren das erste Mal vorgeschlagen worden und weiterhin sehr geläufig ist die Unterscheidung zwischen atopischem (auch allergischem oder extrinsischem) Asthma und nicht-atopischem (auch nicht-allergischem oder intrinsischem) Asthma, wobei das atopische Asthma die häufigere Form im Kindesalter darstellt [13, 38, 39, 89, 90]. Atopie beschreibt die genetische Prädisposition, auf bestimmte Antigene verstärkt spezifische Antikörper der Subklasse E (IgE) zu bilden, die die Entwicklung atopischer Erkrankungen, wie der atopischen Dermatitis, der allergischen Rhinitis und dem allergischen Asthma bronchiale, vermitteln [91]. Grundlage der Entwicklung eines allergischen Asthmas ist demnach die Sensibilisierung vom Typ 1 nach Coombs und Gell auf unterschiedliche Allergene. Mögliche Allergene können sowohl saisonal, z. B. Pollen, oder ganzjährig, z. B. Hausstaubmilben, auftreten. Bei erneutem Kontakt mit dem Allergen kommt es IgE-vermittelt zur Aktivierung von Mastzellen und basophilen Granulozyten. Dabei werden Histamin, Prostaglandine und Leukotriene freigesetzt, die daraufhin im Rahmen der Sofortreaktion zur Kontraktion der glatten Muskelzellen in den Atemwegen, erhöhter Gefäßpermeabilität und vermehrter Schleimproduktion und in der Spätphase zu entzündlichen Veränderungen der Atemwege führen. Die Sofortreaktion bedingt die bronchiale Obstruktion und somit die typische Klinik mit Atemnot und expiratorischem *wheeze*, während es durch die Spätphase zu chronischer Entzündung und

Umbauvorgängen in den Atemwegen kommt, die die bronchiale Hyperreagibilität verursachen bzw. aufrechterhalten. [37, 39, 92-94] Der beschriebene Ablauf stellt jedoch nur eine grobe Verallgemeinerung dar, da komplexe immunologische Mechanismen an der Entwicklung und Aufrechterhaltung von allergischem Asthma beteiligt sind [95].

Unter dem Begriff des nicht-atopischen Asthmas werden alle Formen zusammengefasst, bei denen keine allergische Sensibilisierung nachgewiesen werden kann [96]. Zudem existieren Mischformen, da im Verlauf oft unterschiedliche Trigger in den Vordergrund rücken oder eine Ausweitung des Spektrums an auslösenden Faktoren beobachtet werden kann [39].

1.1.4.2 *Episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze*

Mit Schwerpunkt auf Auslöser und das zeitliche Auftreten teilt ein häufig verwendeter klinischer Ansatz *wheeze* in den ersten sechs Lebensjahren in entweder *episodic viral wheeze* (EVW) oder *multiple trigger wheeze* (*multi-trigger wheeze*, MTW) ein [3, 81]. Kinder mit *episodic viral wheeze* leiden ausschließlich im Rahmen von (meist viralen) Infektionen unter *wheeze* und sind vollständig asymptomatisch zwischen einzelnen Episoden. Dagegen liegt bei Kindern mit *multi-trigger wheeze* mindestens ein weiterer Auslöser (körperliche Anstrengung, Pollen, Staub, Tierhaare, Wettereinflüsse, Zigarettenrauch, Aufregung, Nahrungsmittel oder andere) vor, der dazu führt, dass *wheeze* intermittierend auch zwischen abgrenzbaren Episoden vorhanden ist, wobei bei dieser Form Erkältungen die häufigsten Auslöser für Exazerbationen darstellen. [3, 17, 87] Alternativ zu *multi-trigger wheeze* existiert auch die Bezeichnung *unremitting wheeze*, die das zeitliche Muster von *wheeze* berücksichtigt [17, 97]. In dieser Arbeit wird jedoch im Weiteren der Begriff *multi-trigger wheeze* verwendet. Die dichotome Einteilung in *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* erlaubt für einen spezifischen Zeitraum zwar eine eindeutige Zuordnung, wodurch sich die beiden Untergruppen gegenseitig ausschließen, jedoch sind diese oft nicht stabil und so können Kinder im Verlauf den Phänotyp wechseln [98].

1.1.5 Offene Fragen

Obwohl Asthma aufgrund seiner Häufigkeit und klinischen Relevanz großes wissenschaftliches Interesse weckt und weltweit umfangreiche Forschung betrieben wird, bleiben weiterhin viele Fragen offen.

Im Säuglings- und Kleinkindalter werden verlässliche Methoden benötigt, die eine Unterscheidung zwischen echtem frühkindlichen Asthma und Asthma-ähnlicher *wheeze*-Symptomatik von vorübergehender Dauer erlauben. Eine frühzeitige Diagnose soll dann eine enge ärztliche Anbindung der Kinder mit hohem Risiko zur Asthmapersistenz ermöglichen.

Während bei jüngeren Kindern vermehrt die Gefahr einer Überdiagnose besteht, wird im Gegensatz dazu bei älteren Kindern die Diagnose Asthma häufiger verspätet gestellt. Mehrere Studien in verschiedenen Ländern konnten zeigen, dass ein relativ hoher Anteil an Schulkindern und Jugendlichen mit Asthma-Symptomen keine Asthma-Diagnose erhalten [99-103]. Außerdem kann die Diagnostik besonders bei atypischer Präsentation unklar sein und zu verspäteter Diagnosestellung führen [13]. Zudem werden zusätzlich apparative Methoden zur Lungenfunktionsmessung benötigt, da selbst Kinder mit schwerem Asthma eine unauffällige Lungenfunktion aufweisen können [104].

Der Begriff der Phänotypen ist aus der Asthma-Forschung nicht mehr wegzudenken, doch bleibt die Relevanz der bisher definierten Untergruppen umstritten. Für die Weiterentwicklung personalisierter und gezielter Therapiemöglichkeiten, werden umfassende Phänotypisierungs- und Endotypisierungsansätze und die Identifikation von Biomarkern², die den Krankheitszustand widerspiegeln, benötigt [105, 107].

1.2 Flüchtige Organische Verbindungen (Volatile Organic Compounds, VOCs)

1.2.1 Definition

Eine einheitliche Definition für *flüchtige organische Verbindungen* existiert nicht, jedoch impliziert der Begriff bereits, dass er als Sammelbezeichnung für organische Stoffe mit niedrigem Siedepunkt verwendet wird, was dazu führt, dass diese meist in der Gasphase vorliegen (und sich dementsprechend verflüchtigen). In Deutschland gilt gesetzlich festgelegt ein Stoff als flüchtige organische Verbindung, wenn er „bei 293,15 Kelvin einen Dampfdruck von 0,01 Kilopascal oder mehr hat oder unter den jeweiligen Verwendungsbedingungen eine entsprechende Flüchtigkeit aufweist“ [108].

² Biomarker sind klar definierte und objektiv messbare Merkmale, die als Indikator für physiologische oder pathophysiologische Vorgänge oder das Therapieansprechen dienen [106].

Allgemeiner definiert Cicoella VOCs als eine „Vielzahl von chemischen Substanzen mit der Gemeinsamkeit, dass sie kohlenstoffhaltige Verbindungen sind, die bei Raumtemperatur flüchtig sind“ [109]. Beide Definitionen beziehen sich jedoch auf VOCs in der Umgebungsluft, deren potenziell toxischen Eigenschaften im Sinne einer Luftverunreinigung betrachtet werden. Werden VOCs im medizinischen Kontext der Atemgasanalyse betrachtet, sind diese meist nicht eindeutig definiert, jedoch scheinen die meisten Autoren darunter alle gasförmigen Stoffe zu verstehen, die nicht zu den Hauptbestandteilen der menschlichen Ausatemluft zählen und in nur geringen Konzentrationen vorliegen [110-113].

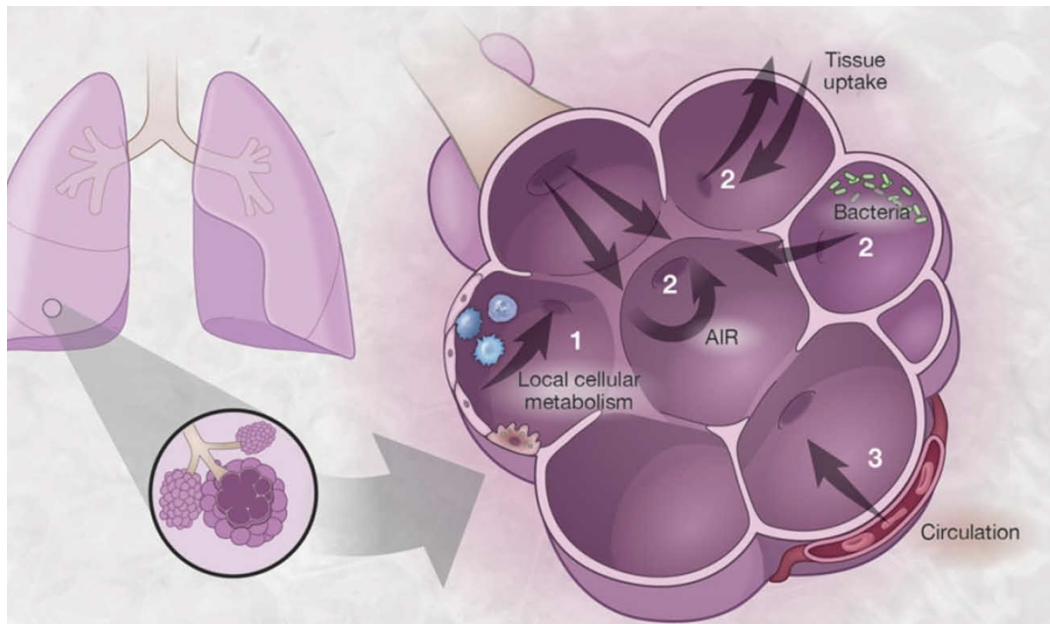
1.2.2 VOCs in der Ausatemluft – Herkunft und Entstehung

Ausgeatmete Luft enthält neben Stickstoff, Sauerstoff, Kohlenstoffdioxid, Wasser und inerten Gasen eine Vielzahl von VOCs mit sehr geringen Konzentrationen im Bereich von *parts-per-billion-by-volume* (ppbv) bis *parts-per-trillion-by-volume* (pptv)³ (\triangleq nmol/l bis pmol/l) [111, 114, 115]. Eine Untersuchung von 50 gesunden Erwachsenen zeigte, dass sich in der Ausatemluft einer Person durchschnittlich etwa 200 unterschiedliche VOCs befinden [110]. In einer weiteren Studie wurden bei Vorschulkindern im Durchschnitt etwa 350 VOCs pro Person in der Ausatemluft identifiziert [116]. Da jedoch sehr große interindividuelle Unterschiede bestehen, wird berichtet, dass bereits über 3000 unterschiedliche VOCs in der menschlichen Ausatemluft identifiziert werden konnten [117, 118]. Dementsprechend konnten Phillips et al. die meisten VOCs auch ausschließlich bei einer einzigen Person beobachten, nur 27 VOCs konnten bei allen 50 Teilnehmenden gefunden werden [110].

Nach ihrer Herkunft lassen sich VOCs grob in *exogene* und *endogene VOCs* unterteilen. Unter den exogenen VOCs befinden sich u. a. inhalierte Partikel aus der Umgebungsluft, Medikamentenspuren, Geruchsstoffe von Essen und Trinken, Zigarettenrauch und Metaboliten von lokalen Bakterien. Endogene VOCs können sowohl lokal in den Atemwegen produziert werden, z. B. bei Inflammation oder durch Karzinome, als auch an anderen Stellen im Körper im Rahmen von Stoffwechselvorgängen entstehen und über Zirkulation und Lunge an die Ausatemluft abgegeben werden. [119] Menschliche Ausatemluft enthält also individuelle VOC-Profile, die Hinweise auf verschiedenste physiologische und pathophysiologische Vorgänge geben können.

³ *billion* (engl.) \triangleq einer Milliarde, *trillion* (engl.) \triangleq einer Billion

Abbildung 2: Herkunft von VOCs in der Ausatemluft; (1) lokale, endogene VOCs aus den Atemwegen; (2) exogene VOCs; (3) systemische, endogene VOCs; aus [119]



1.2.3 VOC-Messungen

Die beiden am häufigsten verwendeten Ansätze zur Messung von VOCs sind grundsätzlich verschieden und ihr Einsatz sollte abhängig von der Fragestellung und der antizipierten klinischen Anwendung sein.

Die Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (GC-MS) gilt als Goldstandard und erlaubt die Erkennung spezifischer VOCs. Zunächst wird in der Gaschromatographie das Gasgemisch in einzelne Komponenten aufgetrennt, die im Anschluss mittels Massenspektrometrie identifiziert und quantifiziert werden können [120, 121]. Aufgrund der Komplexität, der Größe und des Preises der Geräte muss die Messung jedoch in speziellen Einrichtungen oder Labors und durch qualifiziertes Personal erfolgen [119].

Im Gegensatz dazu stehen die sogenannten „elektronischen Nasen“ (electronic nose, eNose), die komplexe Gasgemische anhand von Mustererkennungs-Algorithmen identifizieren [122]. Ihr Name stammt daher, dass ihre Funktionsweise der Nase von Säugetieren ähnelt, welche Gerüche aufgrund der typischen Zusammensetzung unterscheidet, ohne alle einzelnen Komponenten individuell erkennen zu können [123-125]. Eine eNose ist ein tragbares Analysegerät, das die zu untersuchende Probe mit einer Baseline, z. B. Raumluft, vergleicht. Im Inneren befindet sich ein Array von 32

Polymer-Sensoren (*NoseChip*), die mit den in der Probe enthaltenen VOCs kreuzreaktiv reagieren. Das bedeutet, mehrere VOCs können mit einem Sensor reagieren und umgekehrt kann ein VOC auch zu einer Reaktion von verschiedenen Sensoren führen. [119] Durch Anschwellen der Sensoren entstehen relative Widerstandsänderungen bei Reaktion mit der Probe im Vergleich zur Reaktion mit der Baseline [126]. Diese relativen Widerstandsänderungen (ΔR) stellen die Sensorsignale dar:

$$\Delta R = (R_{\max} - R_0)/R_0$$

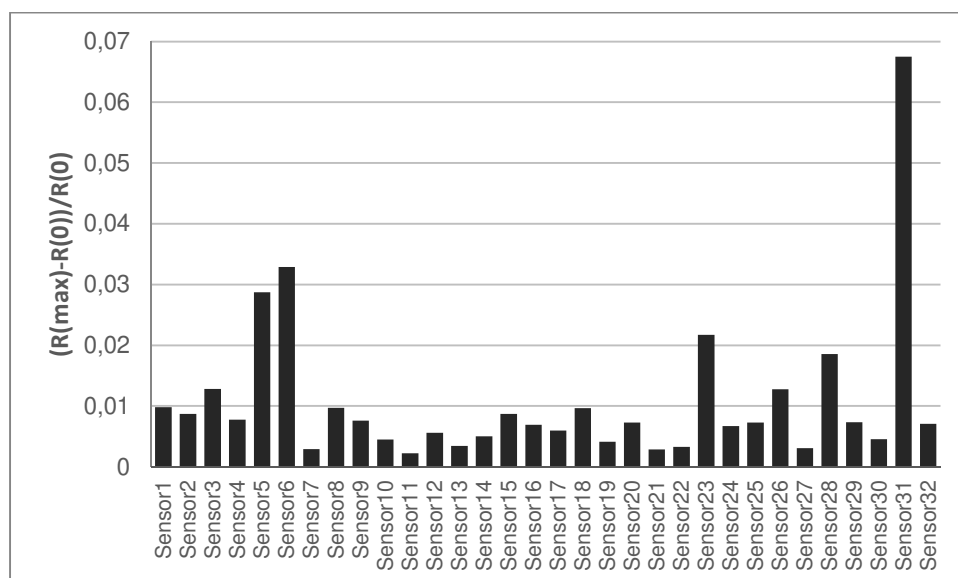
R_{\max} = maximaler Sensorwiderstand bei Reaktion mit der Probe

R_0 = Sensorwiderstand bei Reaktion mit der Baseline

Somit repräsentiert die Messung der eNose die Summe der chemischen und physikalischen Eigenschaften der gesamten untersuchten Probe und ist ungeeignet für die Identifikation spezifischer VOCs [126, 127].

Für jedes VOC-Gemisch ergibt sich jedoch ein charakteristisches Muster (ein sogenannter *smellprint*, siehe Abbildung 3), das anschließend mit Mustern von bekannten Gasmischungen verglichen werden kann und aufgrund von Wahrscheinlichkeiten einem der Gemische zugeordnet werden kann [128]. Gängige eNoses enthalten bereits eine on-board Software, die nach der Konditionierung des Gerätes die Zuordnung einer Probe zu einem der gespeicherten, vorher zum Training verwendeten VOC-Gemische erlaubt.

Abbildung 3: *Smellprint* der Ausatemluft eines gesunden Erwachsenen



Auf dem Markt erhältliche elektronische Nasen werden bisher v. a. für den Einsatz in der Industrie entwickelt, d. h. sie finden u. a. Anwendung in der Qualitätskontrolle und Produktion, der Landwirtschaft und der Nahrungsmittelindustrie [129, 130].

In Abbildung 4 sind die beiden gängigen Methoden der VOC-Analyse noch einmal bildlich dargestellt und Tabelle 1 fasst die Vor- und Nachteile der Methoden zusammen. Werden beide Methoden gemeinsam zur Untersuchung einer Fragestellung verwendet, ergänzen sie sich und können hilfreiche Zusatzinformationen bringen.

Abbildung 4: Überblick über die möglichen Methoden der VOC-Analyse; übersetzt und modifiziert nach [119]

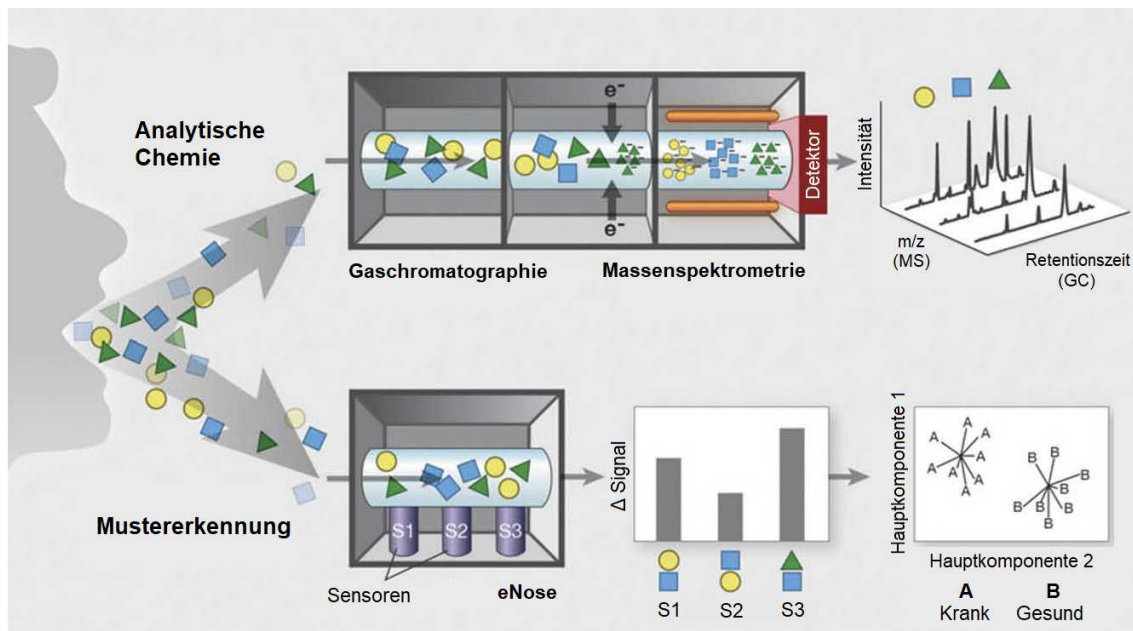


Tabelle 1: Vor- und Nachteile von VOC-Analysen mittels eNose bzw. GC-MS (modifiziert nach [127])

	Vorteile	Nachteile
eNose	<ul style="list-style-type: none"> • Kostengünstig • Tragbares Gerät • Schnelle Analyse • Direkte Analyse am Patienten möglich • Einsatz im klinischen Alltag vorstellbar • Umgang mit dem Gerät einfach erlernbar 	<ul style="list-style-type: none"> • Keine Zuordnung zu spezifischen VOCs möglich • Vergleich von Daten zwischen verschiedenen Geräten schwierig • Bisher wenig standardisiert • Konditionierung des Gerätes notwendig
GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> • Analyse krankheitsspezifischer VOCs möglich • Unterstützung bei der Erforschung zugrundeliegender pathophysiologischer Vorgänge • Gewisse Standardisierung 	<ul style="list-style-type: none"> • Teuer • Bedarf an qualifiziertem Personal • Keine Analyse am Patienten möglich • Längere Dauer bis zur Analyse

1.3 VOCs in der Ausatemluft und ihre Bedeutung in der Medizin

1.3.1 VOC-Analyse als diagnostisches Mittel

Die Idee, dass die Ausatemluft eines Menschen Hinweise auf Erkrankungen geben und unterstützend bei der Diagnosefindung sein kann, ist schon sehr alt. So wird der süßliche Geruch von Aceton, der an faulende Äpfel erinnert, mit einer Ketoazidose bei einem unkontrollierten Diabetes mellitus assoziiert, und bei einem nach Urin riechendem Atem sollte an eine mögliche Urämie bei Niereninsuffizienz gedacht werden [131, 132].

Aufgrund ihrer nicht-invasiven Möglichkeiten haben die Atemgasanalyse und besonders die Analyse von VOCs in den letzten 25 Jahren deutlich an wissenschaftlichem und klinischem Interesse gewonnen. Unter dem Begriff der *breathomics*⁴ beschäftigen sich zahlreiche Arbeitsgruppen mit der Identifikation von krankheitsspezifischen Biomarkern in der Ausatemluft, die sich für diagnostische

⁴ Der Begriff der *breathomics* beschreibt allgemein die Analyse von VOCs in der Ausatemluft.

Zwecke, zur Phänotypisierung oder zur Verlaufskontrolle eignen [119, 133]. Zum Einsatz kommen dabei sowohl quantitative und qualitative Analysen der spezifischen VOCs mittels GC-MS und weiterer spektrometrischer Methoden, als auch Modelle zur Mustererkennung mittels eNose. Es liegt auf der Hand, dass Atemgasanalysen besonders attraktiv in der Erforschung von Atemwegs- und Lungenerkrankungen sind, da ausgeatmete Luft vor der Sammlung intensiven Kontakt mit der Lunge und den Atemwegen hat und es somit wahrscheinlich erscheint, dass sie krankheitsspezifische Substanzen enthält. Bisherige Studien haben gezeigt, dass anhand der Messung von VOCs mittels einer eNose erfolgreich Patienten mit Asthma [134], COPD [135], respiratorischen Infektionen [136, 137], Lungen- und Pleurakarzinomen [138-141], pulmonaler Sarkoidose [142] oder zystischer Fibrose [143] identifiziert werden können.

Der Einsatz der eNose für medizinische Zwecke geht jedoch über die Pneumologie hinaus. In der Annahme, dass durch den Gasaustausch auch systemisch im Blut zirkulierende Metaboliten über die Lunge in die Atemluft abgegeben werden, erstrecken sich die untersuchten Einsatzgebiete über weitere medizinische Fachrichtungen. So sind elektronische Nasen z. B. auch in der Lage, Patienten mit Diabetes [144], gastro-ösophagealer Reflux-Erkrankung [145], amyotropher Lateralsklerose [146], Arthritis [147], chronisch-entzündlicher Darmerkrankung [148] oder chronischen Lebererkrankungen [149] bzw. hepatischer Enzephalopathie [150] richtig zuzuordnen.

1.3.2 **Breathomics in der Diagnostik von Asthma und wheeze**

Die Analyse von VOCs in der Ausatemluft bei Patienten mit Asthma beruht auf der Vorstellung, dass aus pathophysiologischen Vorgängen krankheitsspezifische Metaboliten hervorgehen, die abgeatmet werden. Es wird angenommen, dass dies hauptsächlich gesättigte Kohlenwasserstoffe sind, die aufgrund des erhöhten oxidativen Stresses durch Lipidoxidation von Fettsäuren aus Zellmembranen freigesetzt werden [151-153]. Angesichts der Heterogenität von Asthma ist es wahrscheinlich, dass dabei nicht nur eine einzelne typische chemische Verbindung entsteht, sondern eine Mehrzahl von VOCs, die in ihrer Zusammensetzung einen „molekularen Fingerabdruck“ ergeben, also einen charakteristischen *smellprint*, der bei der Analyse von Atemluft häufig auch als *breathprint*⁵ bezeichnet wird [133, 154, 155].

⁵ Der Begriff des *breathprints* beschreibt ein VOC-Profil in der Ausatemluft.

Dragonieri et al. konnten bereits 2007 zeigen, dass eine eNose anhand der Messung von Ausatemluft erwachsene Asthmatiker von etwa gleichaltrigen gesunden Kontrollen fast vollständig differenzieren konnte [134]. Seitdem konnte in Studien mit erwachsenen Teilnehmenden unter Verwendung einer eNose nicht nur die mögliche Diagnosestellung eines Asthmas bestätigt werden [156-158], sondern es konnte zudem gezeigt werden, dass eine Abgrenzung zur COPD möglich ist [135, 159]. Des Weiteren war eine eNose in der Lage, inflammatorische Asthmaphänotypen [160-162] zu unterscheiden, das Ansprechen auf eine Steroidtherapie [156] vorherzusagen und eine Diskriminierung von verschiedenen Graden der Asthmakontrolle [163] vorzunehmen. Auch das diagnostische Potenzial der Integration von eNose-Technologie mit Spirometrie wurde untersucht und validiert [164, 165]. Diese Ergebnisse wurden unterstützt durch entsprechende Studien mit ähnlichen Zielsetzungen, die VOC-Messungen mittels GC-MS durchführten [158, 166-168].

Studien, die sich auf VOC-Analysen bei Asthma im Kindesalter fokussierten, zeigten ebenfalls vielversprechende Ergebnisse und sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Obwohl ein Großteil der Autoren sich bei der Methode für die GC-MS entschied, sind in den letzten Jahren auch erste e-Nose Studien an Kindern mit Asthma durchgeführt worden, die jedoch erst nach der Datenerhebung für diese Arbeit veröffentlicht wurden [169, 170].

In den Studien, die sich mit der Asthmad Diagnose im Kindesalter befassten, konnten zwischen sechs und 28 VOCs nachgewiesen werden, die mit einer korrekten Klassifikation von 88 – 100 % zwischen Asthmatikern und gesunden Kontrollen differenzieren konnten [171-175], und auch die Abgrenzung zu Kindern mit zystischer Fibrose gelang [175]. Bereits im Vorschulalter ist eine moderate Unterscheidung zwischen asymptomatischen Kindern und Kindern mit *wheeze* sowohl mittels eNose [176], als auch mittels GC-MS [116] möglich und der Hinzugewinn von Information aus *breathomics* verbessert die korrekte Vorhersage einer Asthmad Diagnose im Alter von sechs Jahren [177, 178].

Hauptziele der Asthmathherapie sind unter anderem das Erreichen eines kontrollierten Krankheitszustandes und die Verhinderung von Exazerbationen bzw. deren Eindämmung durch frühzeitige Erkennung und Intervention. Doch bleibt es eine klinische Herausforderung, Kinder mit einem erhöhten Risiko für Exazerbationen zu identifizieren. Robroeks et al. und van Vliet et al. gelang es, VOCs zu ermitteln, die Exazerbationen vorhersagen konnten [118, 179]. In einer weiteren Studie lag der Fokus auf dem Grad der Asthmakontrolle. Obwohl hier keine allgemeine Korrelation

zwischen bestimmten VOCs und dem Grad der Asthmakontrolle nachweisbar war, wurde doch eine Gruppe von VOCs gefunden, die zwischen den beiden Enden des Spektrums *dauerhaft kontrolliert* und *dauerhaft unkontrolliert* unterscheiden konnten [180].

Langfristig ist die Hoffnung, dass der Einsatz von *breathomics* in Zukunft eine wertvolle Ergänzung in der Diagnostik und in der Vorhersage des Verlaufs von *wheeze* und Asthma darstellen wird, um somit verbesserte und individuell abgestimmte Management- und Therapiestrategien anbieten zu können.

Tabelle 2: Übersicht der *breathomics* Studien zu Asthma und *wheeze* im Kindesalter

Fragestellung	Autor (Jahr)	Methode	Referenz
Asthmadiagnose	Dallinga et al. (2010)	GC-MS	[171]
	Caldeira et al. (2011)	GC-MS	[172]
	Caldeira et al. (2012)	GC-MS	[173]
	Gahleitner et al. (2013)	GC-MS	[174]
	van Mastrigt et al. (2016)	Laser Spektroskopie	[175]
	Cavaleiro Rufo et al. (2018)	eNose	[169]
	Bannier et al. (2018)	eNose	[170]
Wheeze-Diagnose	van der Schee et al. (2015)	eNose	[176]
	van de Kant et al. (2013)	GC-MS	[116]
Vorhersage einer Asthmadiagnose	Smolinska et al. (2014)	GC-MS	[177]
	Klaassen et al. (2015)	GC-MS	[178]
Vorhersage einer Exazerbation	Robroeks et al. (2013)	GC-MS	[118]
	van Vliet et al. (2017)	GC-MS	[179]
Asthmakontrolle	van Vliet et al. (2016)	GC-MS	[180]

1.4 ALLIANCE-Kohorte und KIRA-Studie

Die Daten dieser Arbeit wurden im Rahmen des pädiatrischen Arms der All Age Asthma Cohort (ALLIANCE) des Deutschen Zentrums für Lungenforschung (DZL) erhoben. Ehemals wurde der pädiatrische Arm der Studie unter dem Namen *Kinder Register Asthma (KIRA)* geführt, sodass zur Vereinfachung im Folgenden die Bezeichnung KIRA verwendet wird. KIRA ist eine prospektive, multizentrische, beobachtende Kohortenstudie mit folgenden Zielsetzungen:

- Identifizierung von Biomarkern, die eine Unterscheidung zwischen Phänotypen/Endotypen von *preschool wheeze* und Asthma erlauben
- Suchen von Prädiktoren, die Hinweise auf den weiteren Krankheitsverlauf (Remission oder Progredienz) von *preschool wheeze* und Asthma geben
- Verbesserung der Diagnosestellung und Personalisierung der Therapiemöglichkeiten durch Implementierung der Biomarker und Prädiktoren in der klinischen Praxis

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der beteiligten Studienzentren zum Zeitpunkt des Beginns der Datenerhebung für diese Arbeit. Zusätzlich begannen 2017 die Kliniken für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätskliniken in Marburg (Universities of Giessen and Marburg Lung Center, UGMLC) und in Köln mit der Rekrutierung.

Tabelle 3: Studienzentren und Partner der KIRA-Studie, Stand Oktober 2016

DZL Standort	Assoziierte Studienzentren	Partner
Airway Research Center North (ARCN)	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH), Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Abteilung Pädiatrische Pneumologie und Allergologie, Lübeck LungenClinic Grosshansdorf GmbH Forschungszentrum Borstel	Prof. Dr. Matthias Kopp
Biomedical Research in Endstage and Obstructive Lung Disease Hannover (BREATH)	Medizinische Hochschule Hannover (MHH), Universitätsklinik für Pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie	Prof. Dr. Gesine Hansen
Comprehensive Pneumology Centre Munich (CPC-M)	Klinikum der Universität München (KUM), Dr. von Haunersches Kinderspital	Prof. Dr. Dr. h.c. Erika von Mutius

In die Studie eingeschlossen werden einerseits Kinder mit *wheeze*⁶ oder Asthma (zusammengefasst als „Fälle“) und andererseits gesunde Kontrollen. Gesunde Kontrollen

⁶ In dieser Arbeit bezieht sich *wheeze* auf Kinder, die (noch) keine Asthmadignose erhalten haben und damit meist jünger als sechs Jahre sind.

werden nur einmalig gesehen, wohingegen die Fälle nach einem ausführlichen ersten Termin (Baseline) immer im Abstand von einem Jahr zu Follow-up-Terminen erscheinen. Neben der Erhebung von Daten anhand von Fragebögen werden eine Vielzahl an Biomaterialsammungen und objektiven Messungen wie z. B. Lungenfunktionsmessungen, Blutuntersuchungen, Nasen- und Rachenabstriche, Urin- und Stuhlproben und Gewinnung von Nasenepithelzellen durchgeführt.

Die Finanzierung der ALLIANCE-Kohorte erfolgt durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung und für alle Standorte liegt ein positives Votum der jeweiligen lokalen Ethikkommission vor.

Weitere Details zu Studiendesign und Zielsetzung finden sich in der Publikation „The all age asthma cohort (ALLIANCE) - from early beginnings to chronic disease: a longitudinal cohort study“ [18].

2 Zielsetzung

Pathophysiologisch spielt sich Asthma vor allem in den kleineren Atemwegen ab, doch genau dort ist der direkte Zugang zur Beurteilung der Entzündung und Erforschung der molekularen Mechanismen nur im Rahmen einer Bronchoskopie möglich, die aufgrund ihrer Invasivität nicht routinemäßig eingesetzt werden kann. Diese Tatsache unterstreicht, wie wichtig die Verbesserung weniger invasiver diagnostischer Hilfsmittel ist. Atemgasanalysen wecken aufgrund des intensiven Kontakts der ausgeatmeten Luft mit den entzündeten Atemwegen zunehmend wissenschaftliches Interesse und Studien zu VOC-Messungen lassen hoffen, dass sie langfristig eine wertvolle diagnostische Ergänzung im Management von Asthma und *wheeze* darstellen können. Bislang fokussierten sich die Studien in pädiatrischen Kohorten auf Analysen mittels GC-MS, die technisch aufwendig und teuer sind. Hingegen eignen sich die tragbaren und einfach zu bedienenden elektronischen Nasen deutlich besser für einen routinemäßigen klinischen Einsatz direkt am Patienten. Im Rahmen dieser Arbeit sollte deshalb die Anwendung der eNose-Technologie in einer pädiatrischen Studienpopulation aus Asthmatikern, Kindern mit *preschool wheeze* und gesunden Kontrollen untersucht werden. Die Ergebnisse sollten im Rahmen der KIRA- bzw. ALLIANCE-Studie als Ergänzung zu den bereits etablierten Messungen dienen und somit einen Beitrag zu den dort beschriebenen Zielsetzungen der Studie leisten (siehe Kapitel 1.4).

Das erste Hauptziel der Arbeit war die Etablierung der Methoden zur Sammlung von Ausatemluft und zur Analyse mittels eNose in der bereits bestehenden Studienkohorte unter Erstellung einer Arbeitsanweisung, um eine adäquate Reproduzierbarkeit der Methoden zu gewährleisten. Zudem sollte zunächst die grundsätzliche Machbarkeit der Methoden in einer Kohorte mit Kindern ab etwa drei Jahren untersucht werden.

Im Anschluss sollte folgende Hypothese getestet werden:

Die VOC-Profile (*breathprints*) in der Ausatemluft von Asthmatikern, Kindern mit *preschool wheeze* und gesunden Kontrollen im Kindesalter unterscheiden sich.

Daraus ergaben sich des Weiteren die folgenden konkreten Fragestellungen:

1. Kann eine eNose zwischen Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen unterscheiden?
2. Ist mittels eNose eine Klassifikation klinischer Phänotypen von Asthma bzw. *wheeze* möglich?

3. Geben die gemessenen VOC-Profile Hinweise auf den Schweregrad des Asthmas?
4. Welche potenziellen Störfaktoren haben einen Einfluss auf die *breathprints*?

3 Material und Methoden

3.1 Studienpopulation

Für diese Arbeit wurden die Daten von insgesamt 76 Kindern verwendet, die von Oktober 2016 bis September 2017 im Rahmen der KIRA-Studie am Standort München gesehen wurden. So ergab sich ein Querschnitt, in dem jedes Kind genau einmal eingeschlossen wurde, unabhängig davon, ob es zum ersten Mal (Baseline) oder im Rahmen eines Follow-up Termins an der Studie teilnahm.

Allgemeine Einschlusskriterien der KIRA-Studie:

- Alter: 6 Monate bis 18 Jahre
- Reifgeborenes ($\geq 37+0$ SSW)
- Aktives und passives Verständnis der deutschen Sprache
- Schriftliches Einverständnis der Eltern
- Bei Kindern ≥ 8 Jahre schriftliches Einverständnis des Kindes

Allgemeine Ausschlusskriterien der KIRA-Studie:

- Angeborene oder perinatale Lungenerkrankungen des Neugeborenen (BPD, CLD, schweres ANS)
- Fehlbildungen der Atemwege
- >24 Stunden Sauerstoffbedarf nach der Geburt
- Maschinelle Beatmung oder Atemhilfe (CPAP) nach der Geburt
- Bekannte Cystische Fibrose
- Bekannte primäre ziliäre Dyskinesie
- Andere schwere Erkrankung des Respirationstraktes, z. B. interstitielle Lungenerkrankung
- Angeborene Herzfehler mit Beeinflussung der pulmonalen Zirkulation
- Alle weiteren Komorbiditäten außer atopische Erkrankungen
- Fieber ($> 38,5^{\circ}\text{C}$ rektal) in den letzten 2 Wochen

Zusätzliche Einschlusskriterien der Fälle in der KIRA-Studie:

- **6 Monate bis < 6 Jahre:** ≥ 2 Episoden von pfeifender Atmung/*wheeze* innerhalb von 12 Monaten
- **≥ 6 Jahre:** ärztlich diagnostiziertes Asthma bronchiale nach aktuellen GINA-Leitlinien [13] inklusive Lungenfunktionsmessungen

Zusätzliche Einschlusskriterien der gesunden Kontrollen in der KIRA-Studie:

- Nie ≥ 2 Episoden von pfeifender Atmung/*wheeze* innerhalb von 12 Monaten
- Kein ärztlich diagnostiziertes Asthma

Zusätzliches Ausschlusskriterium für die Messung von VOCs mittels eNose:

- Alter < 3 Jahre, da hier nicht von ausreichender Mitarbeit für eine aussagekräftige Messung ausgegangen werden konnte

Die Rekrutierung der Fälle erfolgte über die Ambulanz für Allergie und Asthma und die Stationen am Dr. von Haunerschen Kinderspital sowie über ausgewählte Kinderarztpraxen. Durch Poster und Flyer wurden dort Patientinnen, Patienten und deren Eltern über die Studie informiert.

Gesunde Kontrollen wurden zudem ebenfalls am Dr. von Haunerschen Kinderspital durch Aushänge, über die allgemeine Notfallambulanz, über Spezialambulanzen anderer Subspezialisierungen und über den Operationsplan rekrutiert.

Waren die Familien an einer Teilnahme interessiert, erhielten sie eine Kurzinformation über die Studie und es wurden zunächst die Ein- und Ausschlusskriterien durch die Studienassistentinnen geprüft. Bei anhaltendem Interesse, Erfüllung der Einschlusskriterien und fehlenden Ausschlusskriterien, wurde ein erster Termin im Studienzentrum vereinbart.

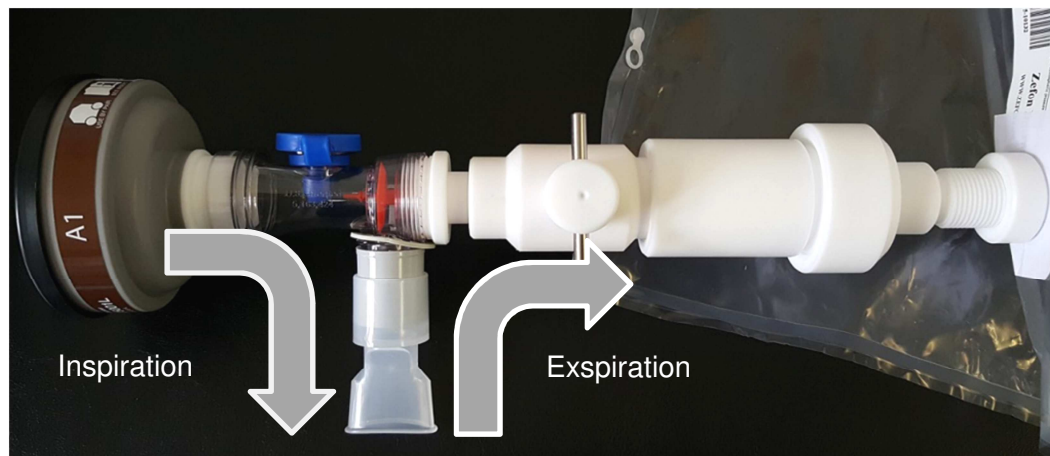
Es lag für alle Kinder eine schriftliche Einverständniserklärung eines oder beider Erziehungsberechtigten und für Kinder ab acht Jahren zusätzlich die Einverständniserklärung des Kindes vor.

3.2 Materialgewinnung und Datenerhebung

3.2.1 Gewinnung von Ausatemluft

Die Materialgewinnung von Ausatemluft, die für diese Arbeit verwendet wurde, beruht auf einer Methode, die in der Abteilung für Pneumologie am Akademisch Medisch Centrum (AMC) der Universität von Amsterdam in den Niederlanden entwickelt wurde [134, 181]. Das dort entworfene Setup wurde an die Bedürfnisse der KIRA-Studie angepasst und größtenteils als Eigenanpassungen durch den Hersteller HeDaMa Instruments in den Niederlanden produziert (Details siehe Kapitel 3.5.1).

Abbildung 5: Setup zur Gewinnung von Ausatemluft und Luftfluss während der Sammlung



Zur Gewinnung von Ausatemluft wurde über das Setup VOC-gefilterte Raumluft eingeatmet und die Ausatemluft in einem zuvor mit Stickstoff gespülten Tedlar®-Beutel gesammelt (siehe Abbildung 5). Zu Beginn wurde dem teilnehmenden Kind und gegebenenfalls den Eltern der genaue Ablauf erklärt. Um sicherzustellen, dass ausschließlich über den Mund geatmet wurde, erhielt der Proband oder die Probandin eine Nasenklemme. Abhängig vom Alter des Kindes wurden nun ein Tedlar®-Beutel mit einem Volumen von 3 l (≤ 5 Jahre) oder von 8 l (> 5 Jahre) am Ende des Setups befestigt. Kleine Kinder konnten bei der Sammlung auch auf dem Schoß eines Elternteils sitzen. Das Setup wurde nun vorsichtig an den Mund herangeführt und meist von Kind oder Elternteil und der Versuchsleitung gemeinsam gehalten. Sobald das Kind das Mundstück umschlossen hatte, wurde der Kugelhahn durch eine 90°-Drehung geöffnet, sodass die ausgeatmete Luft in den Beutel strömen konnte. Das Kind wurde dann aufgefordert, ca. 15-20 Atemzüge in Ruheatmung auszuführen. Bei forcierter oder sehr schneller Atmung, erhielten die Kinder während der Sammlung Atemanweisungen, um einen möglichst ruhigen und gleichmäßigen Atemfluss zu gewährleisten. Das Mindestvolumen an gesammelter Ausatemluft sollte 1 l betragen. Wichtig war, dass das Mundstück auch bei der Inspiration durch die Lippen fest umschlossen wurde, damit so die Einatmung von ungefilterter Raumluft vermieden wurde. Am Ende der Sammlung wurde der Kugelhahn wieder zuge dreht, bevor das Kind das Mundstück aus dem Mund nahm. Daraufhin wurde der Tedlar®-Beutel vom Setup entfernt und verschlossen. Zum Abschluss wurde auf einem Formular die genaue Uhrzeit der Sammlung notiert, da der Inhalt des Beutels innerhalb von 30 min nach der Gewinnung mittels eNose analysiert werden musste.

3.2.2 Fragebögen

Im Rahmen von KIRA wurden zwei verschiedene Fragebögen verwendet, ein altersabhängiger Baseline Fragebogen (< 6 Jahre, $6 - 7$ Jahre, ≥ 8 Jahre), der nur einmalig erhoben wurde, und ein einheitlicher Follow-up-Fragebogen für alle Termine. Diese wurden im persönlichen Gespräch oder als Telefoninterview mit einer Studienassistentin, einer Studienärztin oder einem Studienarzt ausgefüllt. Dabei waren neben den Fragen an die Eltern auch einige Fragen enthalten, die die Kinder selbst beantworten sollten. Diese Fragebögen waren zudem auch die Grundlage für die Interviews mit den Eltern der gesunden Kontrollen, wobei hier ein Teil der Fragen übersprungen wurde. Ebenso beinhaltete der Follow-up-Fragebogen altersabhängige Fragen, sodass auch hier je nach Alter des Kindes ausgewählte Fragen ausgelassen wurden. Beide Fragebögen enthielten Fragen, die schon in der ISAAC-Studie verwendet und validiert worden waren [182].

Ausschließlich zum Baseline-Zeitpunkt wurden u. a. folgende Daten anhand des Fragebogens erhoben:

- Allgemeine Fragen: Geburtsdatum, Geschlecht, Herkunft, Schwangerschaft, Geburt, Neugeborenenperiode
- Fragen zu respiratorischen Symptomen in der Vorgeschichte: *wheeze*, Husten, Alter bei Beginn der Symptomatik, Dauer und Auslöser der Symptome, atopische Komorbiditäten (allergische Rhinokonjunktivitis, atopisches Ekzems, Nahrungsmittelunverträglichkeiten), Medikamentenanamnese, Hospitalisierungen, Immuntherapie, Asthmaschulung
- Fragen zu Familie und Lebensumfeld: Herkunft und Beruf der Eltern, Geschwister, Familienanamnese

Zu jedem Termin (Baseline und Follow-up) wurden u. a. folgende Fragen gestellt:

- Fragen zur aktuellen Symptomatik und Einschätzung des Grades der Asthmakontrolle in den letzten 4 Wochen anhand der GINA-Kriterien [13]
- Medikamenteneinnahme zur Linderung respiratorischer Beschwerden in den letzten 12 Monaten
- Fragen nach Exazerbationen und Hospitalisierungen in den letzten 12 Monaten
- Auslöser für respiratorische Beschwerden in den letzten 12 Monaten
- Fragen nach atopischen Komorbiditäten in den letzten 12 Monaten
- Fragen zur Umweltexposition (Haustiere, Passivrauchen, Schimmelbefall im häuslichen Umfeld) in den letzten 12 Monaten

Zusätzlich zu den Fragebögen wurden auf dem Ergebnisformular der eNose Messung die letzte Mahlzeit und das letzte Getränk inklusive ungefährer Uhrzeit, gegebenenfalls die Uhrzeit der letzten Zigarette und die letzte Medikamenteneinnahme notiert.

3.2.3 Klinische Untersuchung

Im Rahmen der klinischen Untersuchung wurden zunächst Körpergröße und -gewicht sowie die Vitalparameter (Herzfrequenz, Temperatur, Atemfrequenz und Sauerstoffsättigung) erhoben. Die körperliche Untersuchung erfolgte durch eine erfahrene Studienärztin oder einen erfahrenen Studienarzt und umfasste die Auskultation von Lunge und Herz, die Inspektion des Rachenraums und der Trommelfelle, die Evaluation von aktuellem Husten oder aktueller Rhinitis, sowie die Begutachtung der Haut unter Berücksichtigung der Prädispositionsstellen einer atopischen Dermatitis.

3.2.4 Lungenfunktionsmessungen

Die Durchführung von Spirometrie und Bodyplethysmographie erfolgte standardisiert und nach aktuellen Empfehlungen durch erfahrenes, im Umgang mit Lungenfunktionsmessungen geschultes Personal unter Verwendung des Bodyplethysmographen Jaeger MasterScreen Body von CareFusion [183-185].

Dabei wurden neben den Lungenvolumina und –kapazitäten auch der Atemwegswiderstand, die Einsekundenkapazität (FEV_1)⁷ und die maximale Flussgeschwindigkeit bei Expiration (PEF) bestimmt. Im Anschluss wurde der Tiffeneau-Index als Quotient aus der Einsekundenkapazität und der forcierten Vitalkapazität (FVC) berechnet (Tiffeneau-Index = FEV_1/FVC).

Zur Untersuchung der Reversibilität wurde beim Nachweis einer Atemwegsobstruktion in der Lungenfunktionsmessung ein Bronchospasmolyse-Test durchgeführt. Hierfür erhielt das Kind eine altersabhängige Dosis eines inhalativen kurzwirksamen Beta-2-Sympathomimetikums, woraufhin nach ca. 20 Minuten eine erneute Messung erfolgte. Eine Zunahme der FEV_1 um $\geq 12\%$ wurde als signifikante Reversibilität gewertet.

⁷ Die Einsekundenkapazität beschreibt das innerhalb der ersten Sekunde ausgeatmete Volumen bei forcierter Expiration nach maximaler Inspiration.

3.2.5 Allergie-Test

Zum Allergienachweis erfolgte die Messung spezifischer IgE-Werte für typische inhalative Allergene (Pollen, Tierhaare, Schimmelpilze, Milben) und typische Nahrungsmittelallergene (u. a. Milchbestandteile, Hühnereiweiß, Soja, Nüsse, Mehle, Früchte, Fisch) aus dem peripheren Blut mittels Immunoblot (Euroimmun AG, Lübeck, Deutschland).

In dieser Arbeit galt eine Sensibilisierung mit einem Wert von $\geq 0,7$ kU/l (Klasse 2) für mindestens ein beliebiges Allergen im Immunoblot als Nachweis für das Vorliegen einer Atopie.

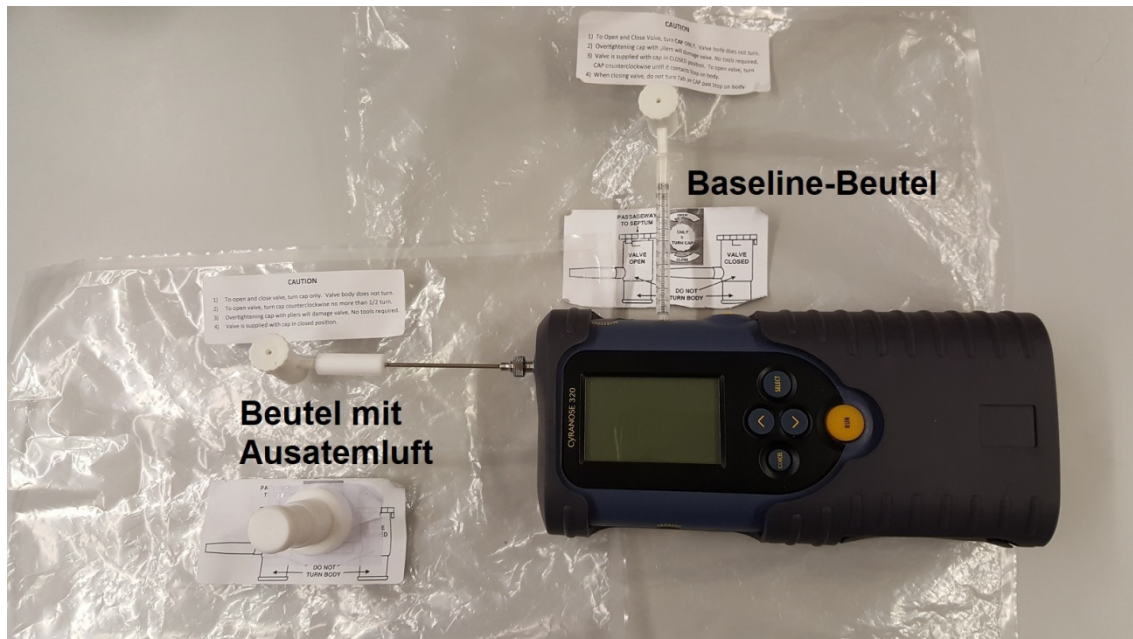
3.3 Analyse mittels einer elektronischen Nase (eNose)

Für die Analyse der VOC-Profile der ausgeatmeten Luft wurde die elektronische Nase Cyranose® 320 von Sensigent, USA (ehemals Smiths Detection Group, UK) verwendet, die in dieser Arbeit gesammelte Ausatemluft mit VOC-gefilterter Raumluft (Baseline) verglich.

Nach dem Einschalten der eNose musste diese zunächst für 6 min mit Raumluft gespült werden um verbleibende VOCs an den Sensoren zu entfernen. Im Anschluss an die Spülung war das Gerät 60 min lang einsatzfähig.

Kurz vor der Gewinnung von Ausatemluft oder direkt im Anschluss erfolgte mittels eines weiteren Setups die Sammlung von VOC-gefilterter Raumluft in einem ebenfalls zuvor mit Stickstoff gespülten Tedlar®-Beutels. Die genaue Uhrzeit der Füllung wurde ebenso auf dem Formular festgehalten, da auch der Baseline-Beutel maximal 30 min vor der Analyse gefüllt werden durfte.

Der Beutel mit der gesammelten Ausatemluft wurde über einen Teflon-Adapter und eine der eNose beige packte Nadel mit dem Probeneingang (*sample inlet*) und der Baseline-Beutel mittels einer 1 ml Spritze ohne Stempel mit dem seitlichen Spüleingang (*purge inlet*) verbunden (siehe Abbildung 6).

Abbildung 6: Verbindung der Tedlar®-Beutel mit der eNose zur Analyse

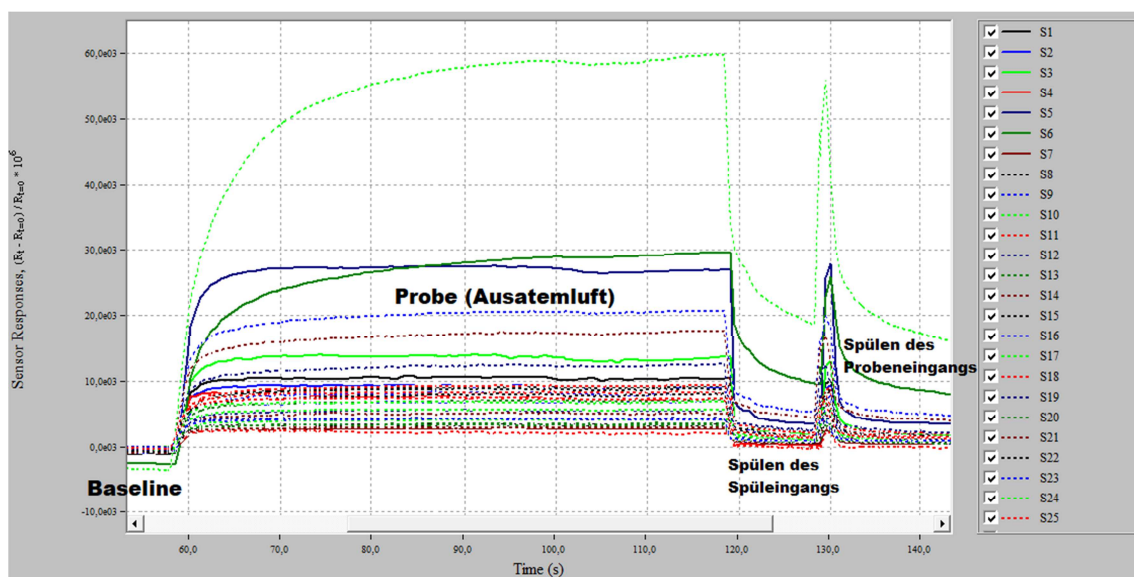
Im Anschluss konnte der Analysevorgang gestartet werden. Dabei aspirierte die eNose zunächst 60 Sekunden lang Luft aus dem Baseline-Beutel, sodass diese an den Sensoren vorbeiströmte (*Purge-Zyklus*). Anschließend wurde 60 Sekunden lang Luft aus dem Beutel am Probeneingang an den Sensoren vorbeigepumpt (*Sampling-Zyklus*). Die Ventile der Beutel wurden jeweils ca. 10 s vorher vollständig (eine Umdrehung) geöffnet und sofort nach dem jeweiligen Sampling wieder verschlossen. Daraufhin wurde der jeweilige Beutel entfernt. Nach der Messung begann die eNose automatisch erst den Spüleingang für 10 s und dann den Probeneingang für 200 s zu spülen, um verbleibende VOCs zu entfernen.

Der Hersteller beschreibt, dass es durch Wasser-Desorption von den Sensoren bei der Verwendung der eNose nach einer gewissen Ruhezeit (die nicht näher quantifiziert ist) zu einem Einfluss auf die *smellprints* kommen kann, dem sogenannten *first sniff Effekt* [130]. Um diesen zu vermeiden, wurde der Analysevorgang zweimal unmittelbar hintereinander durchgeführt, wobei die erste Analyse (simulierte Messung) sofort wieder verworfen wurde und nur die Ergebnisse der zweiten Analyse gespeichert wurden. Die genaue Uhrzeit zu Beginn der Durchführung der jeweiligen Messung wurde auf dem Ergebnisformular festgehalten.

Während der Analyse war die eNose über ein der eNose beige packtes Kabel mit einem Laptop verbunden, auf dem die mitgelieferte Software PCnose installiert war.

Die Funktion *Scrolling Strip Chart* ermöglichte es, das Ansprechen der Sensoren in Echtzeit zu verfolgen und so durch Beurteilung des Graphen grobe Abweichungen der typischen Form sofort zu erkennen, die z. B. Hinweis auf ein Ablösen oder ein Vertauschen der Beutel sein könnten. Wichtig für eine verwertbare Messung war das Erreichen eines Plateaus möglichst aller Sensoren, welches die Sättigung der Sensoren und somit das Erreichen des maximalen Widerstandes widerspiegelt [130]. Abbildung 7 zeigt eine charakteristische Kurve bei der Analyse von Ausatemluft einer gesunden erwachsenen Person.

Abbildung 7: Charakteristische Kurve der Sensorsignale in Echtzeit



3.4 Datenverarbeitung und statistische Auswertung

Mithilfe der Software PCnose wurden die Rohdaten jeweils im Anschluss an die Messung aus der eNose extrahiert und in einer Excel Tabelle gespeichert. Zur Verwaltung wurden alle Daten im Dateiformat CSV gespeichert, woraufhin die weitere Verarbeitung und die Auswertung der Daten mit R Version 3.5.2 und RStudio Version 1.1.463 erfolgten [186, 187]. Gruppenunterschiede bezüglich der demographischen Daten wurden abhängig vom Skalenniveau der Variable mittels des jeweils passenden statistischen Tests untersucht. Bei verhältnisskalierten Merkmalen kamen dabei der unverbundene t-Test oder der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zum Einsatz, bei nominalskalierten Merkmalen der exakte Test nach Fisher oder der Chi-Quadrat-Test.

Nachdem die Normalverteilung der Sensorsignale im Shapiro-Wilk-Test nicht abgelehnt werden konnte, wurden mittels Welch-Test die Rohdaten der Sensorsignale

auf Gruppenunterschiede getestet. Für die Untersuchung von Korrelationen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Die Altersadjustierung der Sensordaten erfolgte unter Erstellung linearer Modelle.

Anschließend wurde mit den adjustierten Sensordaten eine Hauptkomponentenanalyse (*principal component analysis*, PCA) durchgeführt. Durch lineare Modelle entstehen dabei aus den ursprünglichen Variablen neue Variablen, die am besten die Varianz des Datensatzes beschreiben. Die Achse der ersten Hauptkomponente verläuft demnach in Richtung der größten Streuung und für alle weiteren Komponenten nimmt der Anteil an der Gesamtvarianz konsekutiv ab [188, 189]. Das Ziel der PCA war es, die 32 Sensorsignale auf wenige Variablen zu reduzieren, die dennoch den Großteil der Varianz und somit der Informationen der ursprünglichen Variablen enthielten. Alle Hauptkomponenten, deren Varianzanteil bei mindestens 0,1 % lag, wurden für die weiteren Analysen ausgewählt. Das entsprach für alle Fragestellungen den ersten fünf Hauptkomponenten.

Mittels Welch-Tests wurden die sich zwischen den analysierten Gruppen signifikant unterscheidenden Hauptkomponenten identifiziert. Für die jeweils ermittelten Hauptkomponenten wurden dann zunächst Receiver-Operating-Characteristic (ROC)-Kurven und zweidimensionale Streudiagramme zur Visualisierung der Gruppenzuordnung erstellt. Mittels Bootstrapping-Verfahren wurde das 95 %-Konfidenzintervall (KI) der *Area under the curve* (AUC) der ROC-Kurven errechnet. Im Anschluss wurden die ausgewählten Hauptkomponenten zur Erstellung einer linearen Diskriminanzfunktion verwendet, deren Diskriminationsfähigkeit durch Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet wurde und ebenfalls in einer ROC-Kurve dargestellt wurde. Zusätzlich wurde der Prozentsatz der korrekten Gruppenklassifikation nach interner Validierung berechnet.

Konnten keine signifikant unterschiedlichen Hauptkomponenten ermittelt werden, wurden alle fünf Hauptkomponenten in der linearen Diskriminanzanalyse berücksichtigt.

In allen Analysen galt ein $p\text{-Wert} \leq 0,05$ als statistisch signifikant. Zur bildlichen Darstellung des Signifikanzniveaus wurden Sterne eingesetzt (,‘ bei $p \leq 0,05$; ,‘‘ bei $p \leq 0,01$ und ,***‘ bei $p \leq 0,001$).

3.5 Geräte und Verbrauchsmaterialien

3.5.1 Setup zur Materialgewinnung

Das verwendete Setup wurde größtenteils in der Abteilung für Pneumologie am AMC der Universität von Amsterdam in den Niederlanden entworfen und durch den Hersteller HeDaMa produziert [181]. Da das Setup für die Ruheatmung dort jedoch für die Sammlung von Ausatemluft auf Tenax-Adsorptionsröhrchen zur späteren Analyse im Rahmen der U-BIOPRED Studie [26, 190] verwendet wurde, musste es zunächst von uns an die Bedürfnisse dieser Studie angepasst werden. Zwischen Kugelhahn und Verbindungsstück zum Tedlar®-Beutel wurde das Setup um ein mit Kieselgel (Silikagel, Siliciumdioxid) befüllbares Reservoir erweitert, um die ausgeatmete Luft zu trocknen und ein Ansammeln von Kondenswasser im Tedlar®-Beutel zu verhindern. Die Verwendung eines expiratorischen Kieselgel-Filters war zuvor bereits mehrfach beschrieben worden [134, 140]. Abbildung 8 und Tabelle 4 geben eine Übersicht über die verwendeten Einzelteile und die entsprechenden Hersteller.

Abbildung 8: Setup zur Materialgewinnung

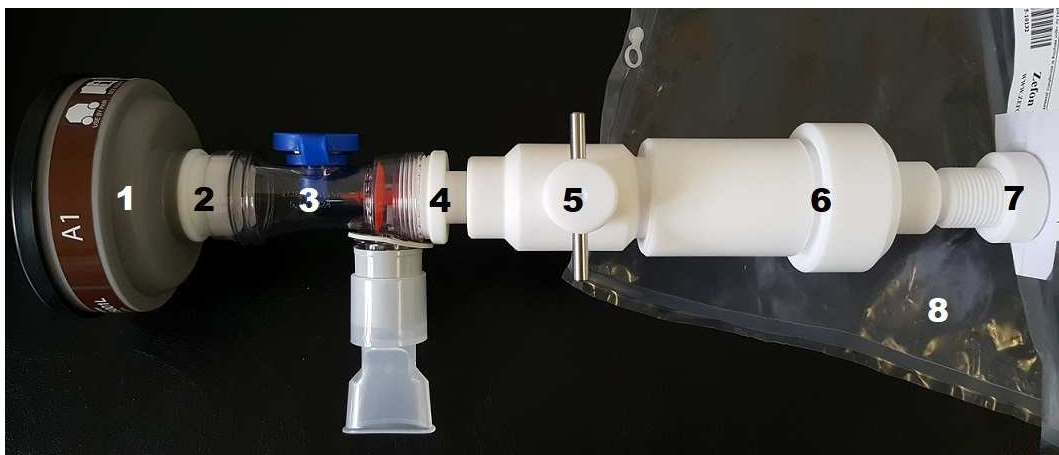


Tabelle 4: Einzelteile des Setups zur Materialgewinnung

	Einzelteil	Hersteller
1	A1-Atemschutzfilter	Honeywell International Inc., USA
2	Teflon-Adapter von A1 Filter zu Ambu-Ventil	HeDaMa Instruments, Niederlande
3	Ambu Baby Einmembran-Patientenventil	Ambu A/S, Dänemark
4	Teflon-Adapter von Ambu-Ventil zu Kugelhahn	HeDaMa Instruments, Niederlande
5	Teflo-Kugelhahn	HeDaMa Instruments, Niederlande
6	Teflon-Kieselgel-Reservoir	HeDaMa Instruments, Niederlande
7	Adapter von Tedlar®-Beutel zu Kieselgel-Reservoir (bereits integriert in Tedlar®-Beutel)	HeDaMa Instruments, Niederlande
8	Tedlar®-Beutel 3 l / 8 l	Ion Science, Vereinigtes Königreich

3.5.2 Setup zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumlufte

Das Setup, mit dem VOC-gefilterte Raumlufte in den Baseline-Beutel gefüllt wurde, entstand ebenso am AMC [191]. Die Einzelteile und ihre Hersteller sind in Abbildung 9 und Tabelle 5 aufgelistet.

Abbildung 9: Setup zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumlufte

Tabelle 5: Einzelteile des Setups zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumluft

	Einzelteil	Hersteller
1	3 l Kalibrierungsspritze	Hans-Rudolph inc., USA
2	Viren-Filter	GVS Filter Technology, Italien
3	A2-Atemschutzfilter	Honeywell International Inc., USA
4	Adapter von A2-Atemschutzfilter zu Kalibrierungsspritze	HeDaMa Instruments, Niederlande
5	Zweiweg-Nichtrückatmungsventil	Hans-Rudolph inc., USA
6	Adapter von Einwegfilter zu Zweiweg-Nichtrückatmungsventil	HeDaMa Instruments, Niederlande
7	Teflon-Kieselgel-Reservoir	HeDaMa Instruments, Niederlande
8	Tedlar®-Beutel 8 l	Ion Science, Vereinigtes Königreich

3.5.3 Software

Tabelle 6: Verwendete Software

Software	Entwickler
PCnose	Sensigent, USA (ehemals Smiths Detection Group, UK)
Microsoft Office 2010	Microsoft Corporation, USA
EndNote X9	Clarivate Analytics, USA
R	R Core Team
RStudio	RStudio, Inc.

3.5.4 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien und Hersteller

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Kieselgelgranulat	VWR International, USA
Einweg-Nasenklemme	GaleMed Corporation, China
Einweg-Mundstück aus Hartplastik, 22 mm	Medisize B.V., Niederlande
1 ml Spritze	Becton, Dickinson and Company (BD), USA
Desinfektionsmittel (gigasept® instru AF)	Schülke & Mayr, Deutschland
N2 Reingas	Linde, Deutschland

3.6 Reinigung der Setups

Zur Reinigung wurden die Setups nach jeder Verwendung auseinandergebaut, das Kieselgel verworfen und alle Einzelteile zunächst unter fließendem Wasser gereinigt. Anschließend wurde entsprechend der Gebrauchsanweisung eine 4 % Lösung aus dem gigasept® instru AF Konzentrat hergestellt und die Teile wurden darin mindestens 60 min lang eingelegt. Dabei wurde darauf geachtet, dass alle Hohlkörper vollständig eingetaucht und alle Oberflächen benetzt waren. Nach der Einwirkzeit wurden alle Einzelteile gründlich unter fließendem Wasser abgespült und mittels Druckluft getrocknet. Um eine Störung der Messung durch verbleibende Reste des Desinfektionsmittels zu verhindern, wurde streng nach dem hier genannten Reinigungsschema vorgegangen.

4 Ergebnisse

4.1 Definitionen der Studiengruppen

Tabelle 8 fasst die vorwiegend verwendete Zuordnung zu den Studiengruppen zusammen, die sich primär an der Studieneinschlussdiagnose orientierte. Die Unterteilung der Einschlussdiagnose *wheeze* in *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* bezog sich jeweils auf das letzte Jahr und erfolgte anhand folgender Frage aus dem Follow-up-Fragebogen:

Welches sind die Auslöser für pfeifende oder keuchende Geräusche im Brustkorb bei Ihrer Tochter / Ihrem Sohn in den letzten 12 Monaten?

Mögliche Antworten auf diese Frage waren folgende:

- Atemwegsinfekt (z. B. Schnupfen, Halsschmerzen, Fieber)
- Körperliche Anstrengung
- Pollen (Baumpollen wie z. B. von Birke, Erle, Hasel; Gräserpollen)
- Staub
- Kontakt mit Tieren
- Wettereinflüsse (z. B. kalte, trockene oder feuchte Luft)
- Zigarettenrauch
- Aufregung, Nervosität, Freude, Angst
- Bestimmte Speisen
- Andere

Sobald bei dieser Frage ein zusätzlicher Auslöser zu Infektionen angegeben war, wurde das Kind in die Gruppe mit *multi-trigger wheeze* eingeteilt. Wurden ausschließlich Infektionen als Trigger genannt, wurde das Kind der Gruppe mit *episodic viral wheeze* zugeordnet. Nur wenn alle Auslöser verneint wurden, wurden die Antworten der entsprechenden Frage in alten Follow-up-Fragebögen überprüft. Dabei konnte für diese Kinder ermittelt werden, dass zuvor *wheeze* nur im Rahmen von Infektionen aufgetreten war, weshalb sie der Gruppe mit *episodic viral wheeze* zugeteilt wurden.

Tabelle 8: Definitionen der Studiengruppen

Studiengruppe	n	Definition
Gesunde Kontrollen	12	Weder ärztlich diagnostiziertes Asthma noch jemals ≥ 2 Episoden von <i>wheeze</i> innerhalb von 12 Monaten \triangleq Einschlussdiagnose <i>gesunde Kontrolle</i>
Asthma	38	Ärztlich diagnostiziertes Asthma bronchiale nach aktuellen Leitlinien \triangleq Einschlussdiagnose <i>Asthma</i>
<i>Episodic viral wheeze</i>	11	Jemals ≥ 2 Episoden von <i>wheeze</i> innerhalb von 12 Monaten \triangleq Einschlussdiagnose <i>wheeze</i> + Innerhalb der letzten 12 Monate <i>wheeze</i> ausschließlich assoziiert mit Infektionen oder asymptomatisch innerhalb der letzten 12 Monate und zuvor <i>wheeze</i> ausschließlich assoziiert mit Infektionen
<i>Multi-trigger wheeze</i>	15	Jemals ≥ 2 Episoden von <i>wheeze</i> innerhalb von 12 Monaten \triangleq Einschlussdiagnose <i>wheeze</i> + Innerhalb der letzten 12 Monate mindestens ein weiterer Auslöser (körperliche Anstrengung, Pollen, Staub, Tierhaare, Wettereinflüsse, Zigarettenrauch, Aufregung, Nahrungsmittel oder andere) für <i>wheeze</i> neben Infektionen

Da der Studieneinschluss der meisten Kinder zum Zeitpunkt der VOC-Messungen bereits einige Jahre zurücklag, hatte ein Teil der Kinder mit Einschlussdiagnose *wheeze* bereits das siebte Lebensjahr erreicht und entsprechend potenziell eine Asthmadiagnose erhalten. Neben der in Tabelle 8 aufgeführten Definition wurden deswegen noch weitere Einteilungen untersucht. Zum einen erfolgte für die Unterscheidung zwischen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* der Ausschluss aller Kinder ab sechs Jahren. Zum anderen wurden drei Kinder mit Einschlussdiagnose *wheeze* der Gruppe der Asthmatiker zugeordnet, wenn das Kind mindestens sechs Jahre alt und weiterhin symptomatisch war, mindestens einen Auslöser neben Infektionen für *wheeze* angab und zudem inhalative Corticosteroide erhielt, da eine Asthmadiagnose in diesem Fall wahrscheinlich erschien.

Aufgrund der äußerst ungleichen Gruppengröße von Fällen einerseits und gesunden Kontrollen andererseits, wurde außerdem eine an Alter und Geschlecht orientierte paarweise Zuordnung je eines Falles zu einer gesunden Kontrolle vorgenommen.

Zuletzt wurden Kinder mit Asthma noch abhängig davon, ob sie zum Zeitpunkt der Messung eine Dauertherapie mit inhalativen Corticosteroiden erhalten hatten, in zwei Subgruppen geteilt, die anschließend getrennt im Vergleich zu gesunden Kontrollen analysiert wurden.

4.2 Beschreibung der Studienpopulation

Insgesamt nahmen 76 Kinder an der Datenerhebung im Rahmen dieser Arbeit teil: 38 Kinder mit Asthma, 26 Kinder mit *wheeze* und 12 gesunde Kontrollen. In der folgenden Tabelle sind die Charakteristika der Studiengruppen zusammengefasst.

Tabelle 9: Demographische Daten der Studienpopulation

Merkmal		Gesamt	Wheeze			Asthma	Gesund
			Gesamt	EVW	MTW		
Anzahl		76	26	11	15	38	12
Weibliches Geschlecht		26 (34%)	10 (38%)	4 (36%)	6 (40%)	13 (34%)	3 (25%)
Alter, Durchschnitt (Jahre)		9,7±4,3	5,4±1,2 ⁺⁺⁺	5,4±1,4	5,3±1,1	12,6±3,3*	9,7±3,2*/ ⁺⁺⁺
Altersspanne (Jahre)		3-20	3-8	3-8	3-7	7-20	5-15
Gewicht (kg)		37±18	20±4 ⁺⁺⁺	21±5	20±4	49±17**	34±13**/ ⁺⁺⁺
Größe (cm)		137±24	112±9 ⁺⁺⁺	113±10	112±9	154±17*	139±21*/ ⁺⁺⁺
Atopie	N/A	5	4	1	3	1	0
	≥ 0,35 kU/l	60 (85%)	19 (86%)	9 (90%)	10 (83%)	33 (89%)	8 (67%)
	≥ 0,7 kU/l	44 (62%)	13 (59%) ⁺⁺	6 (60%)	7 (58%)	30 (81%) ^{***}	1 (8%) ^{***} / ⁺⁺
Lungenfunktion	N/A	9	6	4	2	2	1
	FEV₁ (l)	2,2±1,0	1,2±0,3 ⁺⁺⁺	1,3±0,4	1,1±0,3	2,6±0,9	2,4±1,0 ⁺⁺⁺
	FVC (l)	2,6±1,2	1,4±0,4 ⁺⁺⁺	1,6±0,5	1,3±0,3	3,2±1,1	2,6±1,0 ⁺⁺⁺
	Tiffeneau-Index (%)	85±8	87±9	84±9	89±9	83±7 ^{***}	91±5 ^{***}
Asthmakontrolle nach GINA-Kriterien	N/A	N/A	2	1	1	1	N/A
	Kontrolliert	N/A	18 (75%)	8 (80%)	10 (71%)	26 (70%)	N/A
	Teilweise kontrolliert	N/A	4 (17%)	2 (20%)	2 (14%)	7 (19%)	N/A
	Unkontrolliert	N/A	2 (8%)	0	2 (14%)	4 (11%)	N/A
ICS Dauertherapie		N/A	13 (50%)	2 (18%) [#]	11 (73%) [#]	23 (61%)	N/A
Raucherhaushalt		18 (24%)	6 (23%)	2 (18%)	4 (27%)	7 (18%)	5 (42%)

*/**/*** signifikanter Unterschied zwischen Asthma und gesunden Kontrollen. +/**/+++ signifikanter Unterschied zwischen *wheeze* und gesunden Kontrollen. # signifikanter Unterschied zwischen EVW und MTW. Die Teststatistik beruht auf dem exakten Test nach Fisher für kategoriale Variablen und dem unverbundenen t-Test oder Wilcoxon-Mann-Whitney-Test für kontinuierliche Variablen.

4.3 Analysen in der Übersicht

Zunächst wurden die Sensorrohdaten auf Unterschiede zwischen verschiedenen Gruppen von Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen, sowie zwischen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* innerhalb der Gruppe der Kinder mit *wheeze*, getestet. Ebenfalls untersucht wurde der Einfluss möglicher Störgrößen auf die Sensorrohdaten. Anschließend wurden dieselben Analysen erneut mit den altersadjustierten Sensorsignalen durchgeführt. Erst im nächsten Schritt erfolgte die Durchführung der Hauptkomponentenanalyse und der linearen Diskriminanzanalyse. Daraufhin wurden wieder Vergleiche zwischen den verschiedenen Gruppen von Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen, sowie zwischen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* innerhalb der Gruppe der Kinder mit *wheeze*, durchgeführt. Zusätzlich wurde nach erfolgter Hauptkomponentenanalyse noch untersucht, inwiefern der Atopiestatus, Kriterien, die Hinweise auf den Asthma-Schweregrad geben, und Passivrauchen zu veränderten VOC-Profilen in der Ausatemluft führen. Tabelle 10 zeigt eine Übersicht über die Analysen und Gruppenvergleiche der folgenden Kapitel.

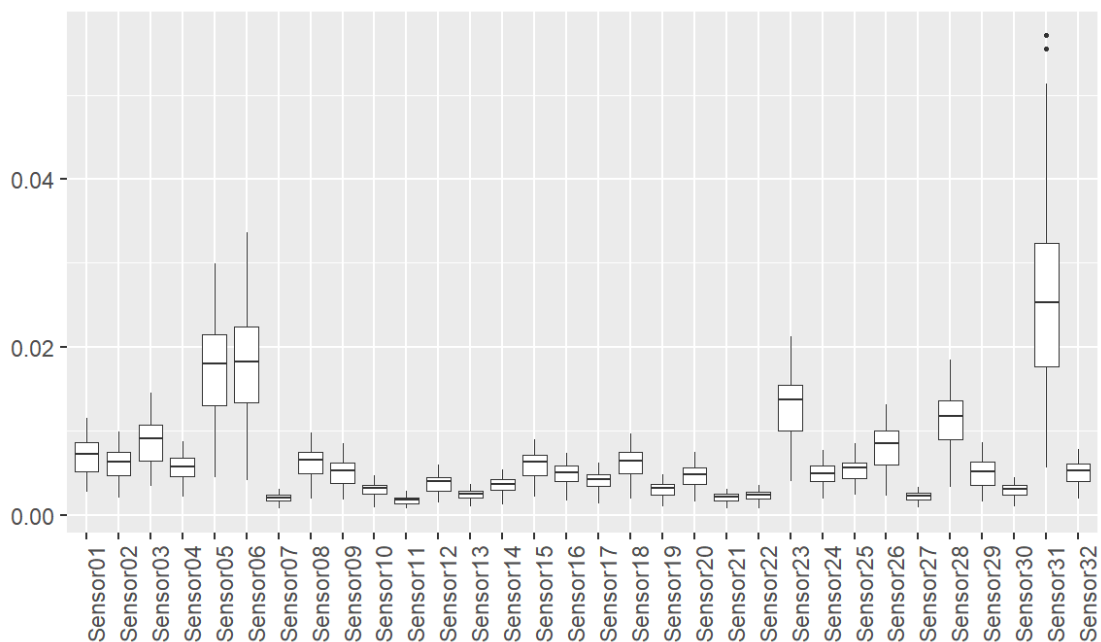
Tabelle 10: Übersicht über die in dieser Arbeit erfolgten Analysen und Gruppenvergleiche. Es sind jeweils die entsprechenden Kapitel und Seitenzahlen angegeben.

Fragestellung		Sensorsignale		Hauptkomponenten-analyse und Diskriminanzanalyse
		Rohdaten	nach Alters-adjustierung	
Obstruktive Atemwegs-erkrankungen versus gesunde Kontrollen	Fälle versus gesunde Kontrollen	4.4.1, Seite 42	4.4.6.1, Seite 48	4.5.1, Seite 51
	Asthmatiker versus gesunde Kontrollen	4.4.2, Seite 43	4.4.6.2, Seite 48	4.5.2, Seite 59
	Wheeze versus gesunde Kontrollen	4.4.3, Seite 44	4.4.6.3, Seite 49	4.5.3, Seite 61
Wheeze-Phänotypen	Episodic viral wheeze versus multi-trigger wheeze	4.4.4, Seite 45	4.4.6.4, Seite 49	4.5.4, Seite 61
Einfluss möglicher Störgrößen	Geschlecht	4.4.5.1, Seite 46	4.4.6.5, Seite 49	
	Alter	4.4.5.2, Seite 46	4.4.6.5, Seite 49	
	Gewicht	4.4.5.3, Seite 48	4.4.6.5, Seite 49	
Atopisch versus nicht-atopisch	Asthma			4.5.5.1, Seite 65
	Wheeze			4.5.5.2, Seite 66
	Fälle			4.5.5.3, Seite 67
Asthma-Schweregrad	ICS-Therapie			4.5.6.1, Seite 67
	Tiffeneau-Index			4.5.6.2, Seite 68
	Asthma-kontrolle			4.5.6.3, Seite 70
Rauchen im Haushalt				4.5.7, Seite 71

4.4 Sensorsignale

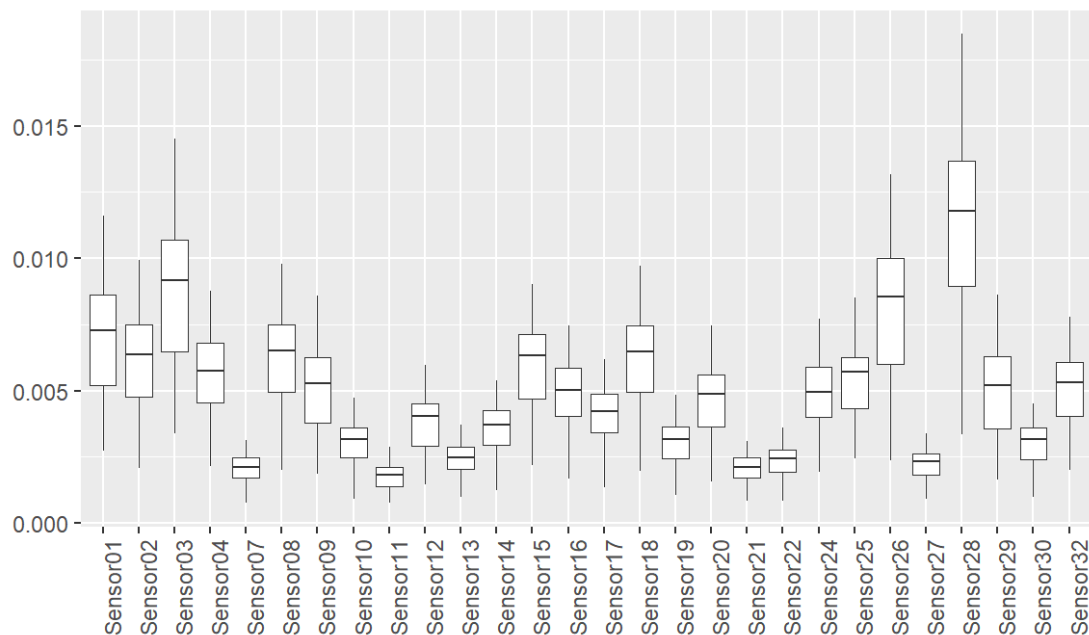
In der folgenden Abbildung sind die Sensorrohdaten aller Kinder als Boxplots dargestellt. Einzelne Sensorsignale erreichten Werte von 0,0007 (Sensor 11) bis 0,0571 (Sensor 31). Die Sensoren mit den höchsten Werten und der größten Streuung waren Sensor 5, 6, 23 und 31.

Abbildung 10: Graphische Darstellung der Sensorrohdaten aller Kinder als Boxplots. Der untere Rand der Box entspricht der 25. Perzentile, der obere Rand der 75. Perzentile und der schwarze Querbalken dem Median



Es ist bekannt, dass die Sensoren 5, 6, 23 und 31 stark mit polaren Molekülen wie Wasser reagieren [192], sodass der Hersteller empfiehlt, diese bei der Analyse von Gasgemischen mit hohem Wasseranteil auszuschließen [130]. Um den Störeinfluss des sehr variablen Wassergehalts in der Ausatemluft zu minimieren, wurden die bekannten wassersensiblen Sensoren 5, 6, 23 und 31 für alle weiteren Analysen ausgeschlossen.

Abbildung 11: Rohdaten der Sensorsignale aller Kinder nach Entfernung der wasserempfindlichen Sensoren 5, 6, 23 und 31



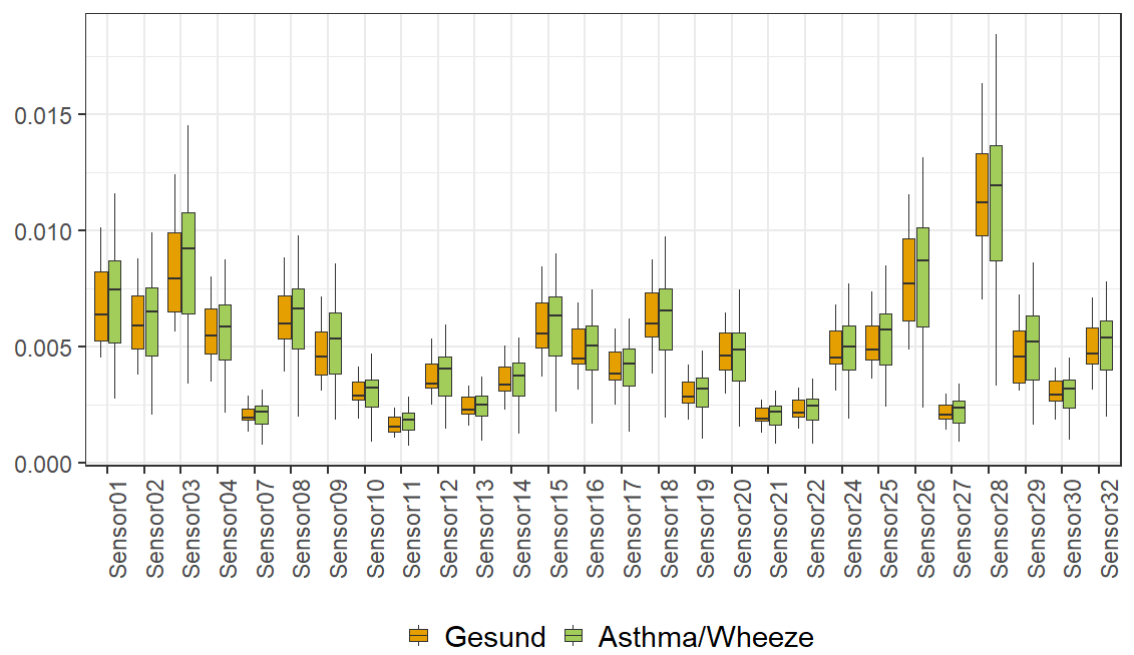
4.4.1 Fälle versus gesunde Kontrollen

Beim Vergleich der Sensorsignale aller Fälle (Asthma und *wheeze*) mit den Sensorsignalen der gesunden Kontrollen, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (p-Werte $\geq 0,41$).

Tabelle 11: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Fällen und gesunden Kontrollen

Sensor	Differenz	p-Wert	Sensor	Differenz	p-Wert
Sensor1	0,0071	0,63	Sensor17	0,0041	0,85
Sensor2	0,0062	0,75	Sensor18	0,0063	0,98
Sensor3	0,0088	0,52	Sensor19	0,0030	0,79
Sensor4	0,0056	0,95	Sensor20	0,0047	0,92
Sensor7	0,0021	0,81	Sensor21	0,0021	0,63
Sensor8	0,0063	0,92	Sensor22	0,0023	0,84
Sensor9	0,0051	0,41	Sensor24	0,0049	0,72
Sensor10	0,0030	0,92	Sensor25	0,0055	0,44
Sensor11	0,0018	0,43	Sensor26	0,0082	0,83
Sensor12	0,0038	0,59	Sensor27	0,0022	0,59
Sensor13	0,0024	0,87	Sensor28	0,0113	0,81
Sensor14	0,0036	0,75	Sensor29	0,0050	0,47
Sensor15	0,0060	0,78	Sensor30	0,0030	0,95
Sensor16	0,0049	0,85	Sensor32	0,0051	0,64

Abbildung 12: Sensorsignale der Fälle und der gesunden Kontrollen im Vergleich. Die Sensorsignale zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.



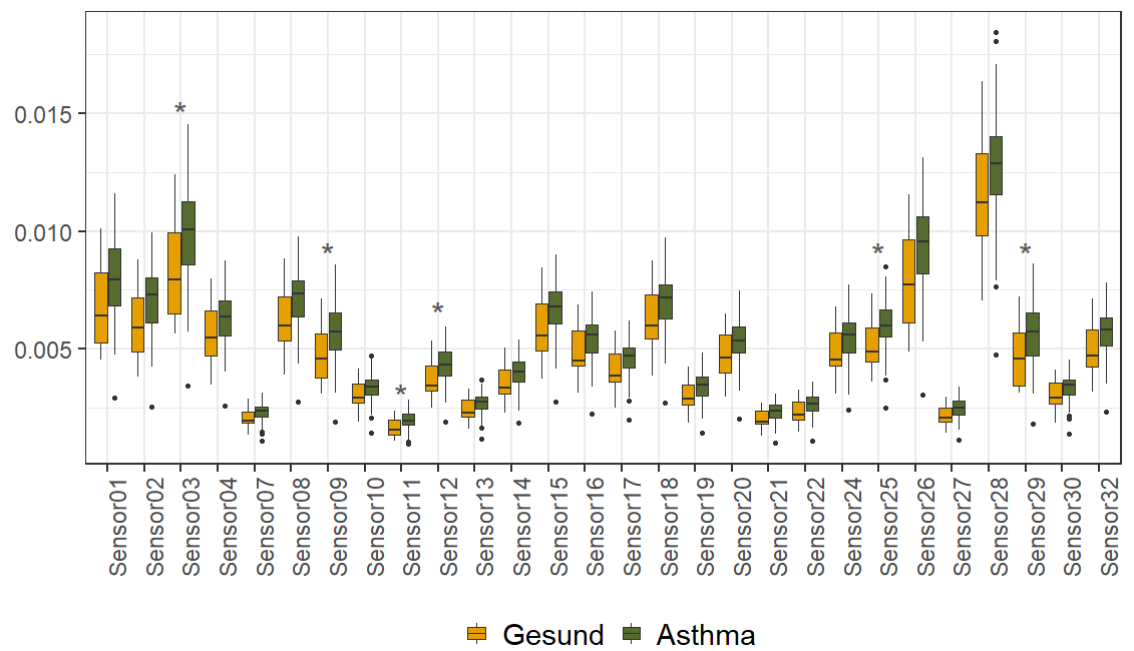
4.4.2 Asthmatiker versus gesunde Kontrollen

Signale von insgesamt sechs Sensoren waren signifikant unterschiedlich beim Vergleich von Asthmatikern mit gesunden Kontrollen (p-Werte $\leq 0,05$).

Tabelle 12: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Asthmatikern und gesunden Kontrollen

Sensor	Differenz	p-Wert
Sensor3	0,0099	0,045
Sensor9	0,0058	0,032
Sensor11	0,0020	0,038
Sensor12	0,0043	0,048
Sensor25	0,0060	0,038
Sensor29	0,0057	0,042

Abbildung 13: Sensorsignale von Asthmatikern und gesunden Kontrollen im Vergleich.
Die Sensoren 3, 9, 11, 12, 25 und 29 zeigten signifikant verschiedene Werte (Welch-Test).



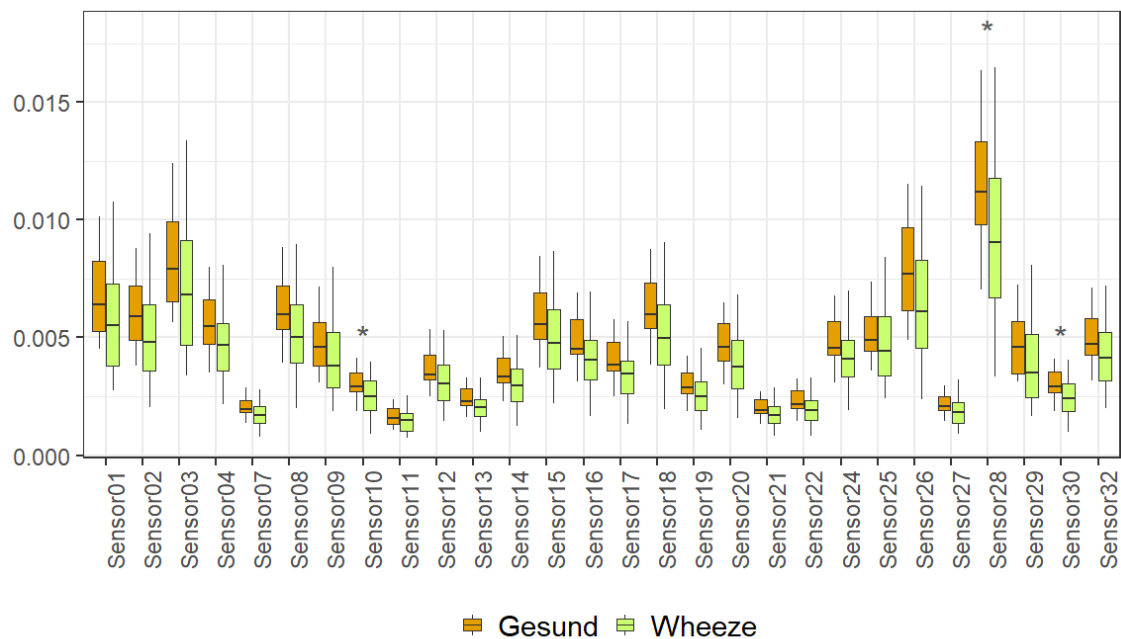
4.4.3 Wheeze versus gesunde Kontrollen

Beim Vergleich von Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen zeigten die Rohdaten für drei Sensoren signifikante Unterschiede (p-Werte $\leq 0,05$).

Tabelle 13: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen

Sensor	Differenz	p-Wert
Sensor10	0,0025	0,050
Sensor28	0,0093	0,043
Sensor30	0,0025	0,043

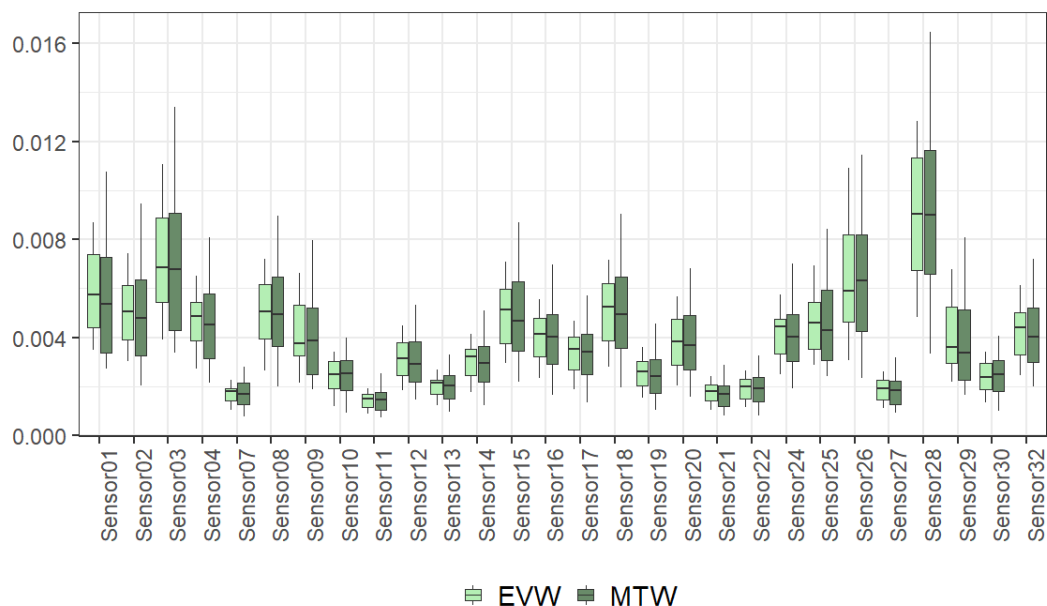
Abbildung 14: Sensorsignale von Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen im Vergleich. Die Sensoren 10, 28 und 30 zeigten signifikant verschiedene Werte (Welch-Test).



4.4.4 Episodic viral wheeze versus multi-trigger wheeze

Die Sensorsignale von Kindern mit *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* unterschieden sich nicht signifikant (p-Werte $\geq 0,65$).

Abbildung 15: Sensorsignale von Kindern mit aktuellem *episodic viral wheeze* bzw. *multi-trigger wheeze* im Vergleich. Die Sensorsignale zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

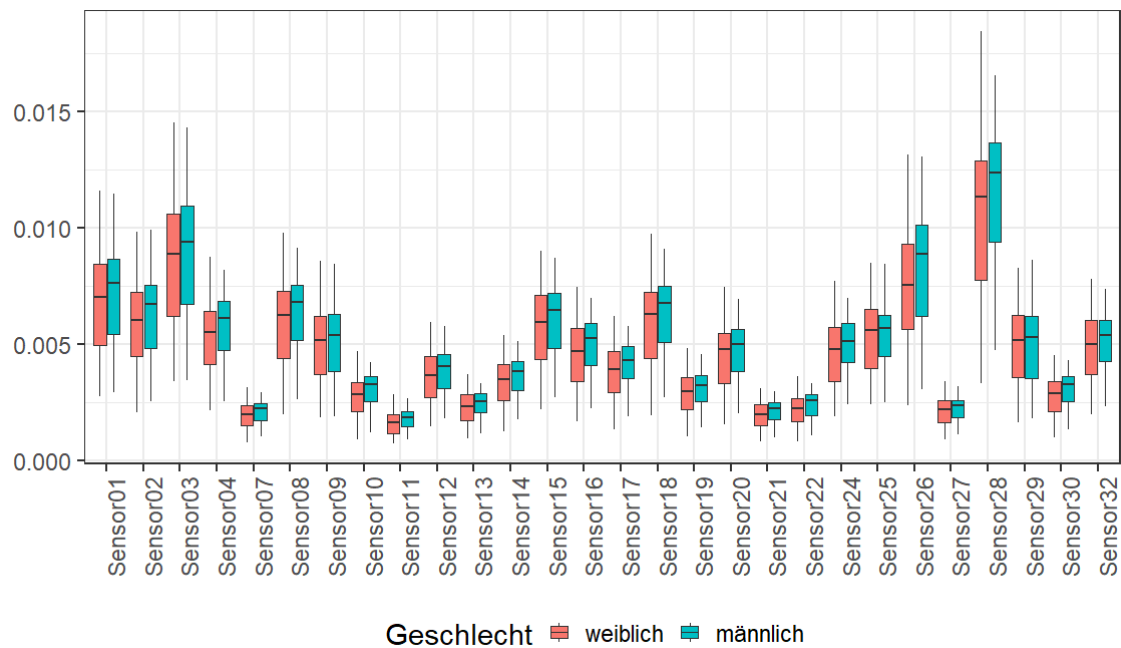


4.4.5 Einfluss möglicher Störgrößen

4.4.5.1 Geschlecht

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Sensorsignalen zwischen Mädchen und Jungen (p -Werte $\geq 0,32$).

Abbildung 16: Sensorsignale von Jungen und Mädchen im Vergleich. Die Sensorsignale zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern.



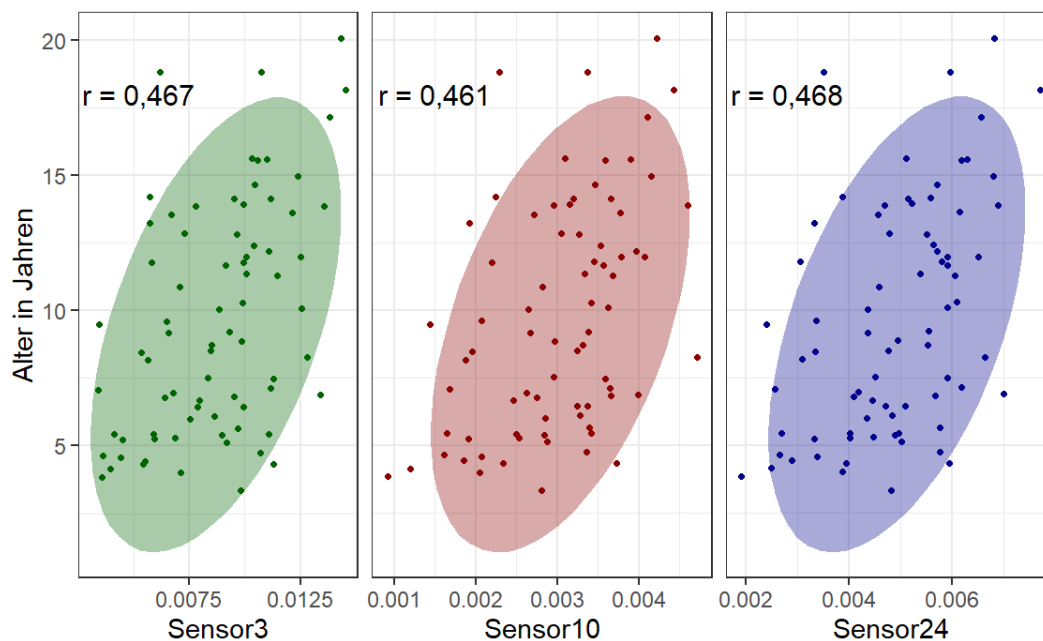
4.4.5.2 Alter

Die Rohdaten aller Sensoren zeigten eine deutliche Korrelation mit dem Alter der Kinder (p -Werte $< 0,001$).

Tabelle 14: Korrelation der Sensorsignale mit dem Alter

Sensor	Korrelationskoeffizient nach Pearson	p-Wert	Sensor	Korrelationskoeffizient nach Pearson	p-Wert
Sensor1	0,470	< 0,001	Sensor17	0,465	< 0,001
Sensor2	0,472	< 0,001	Sensor18	0,456	< 0,001
Sensor3	0,467	< 0,001	Sensor19	0,469	< 0,001
Sensor4	0,465	< 0,001	Sensor20	0,444	< 0,001
Sensor7	0,518	< 0,001	Sensor21	0,482	< 0,001
Sensor8	0,466	< 0,001	Sensor22	0,482	< 0,001
Sensor9	0,451	< 0,001	Sensor24	0,468	< 0,001
Sensor10	0,461	< 0,001	Sensor25	0,413	< 0,001
Sensor11	0,476	< 0,001	Sensor26	0,477	< 0,001
Sensor12	0,472	< 0,001	Sensor27	0,454	< 0,001
Sensor13	0,493	< 0,001	Sensor28	0,443	< 0,001
Sensor14	0,461	< 0,001	Sensor29	0,446	< 0,001
Sensor15	0,453	< 0,001	Sensor30	0,484	< 0,001
Sensor16	0,465	< 0,001	Sensor32	0,461	< 0,001

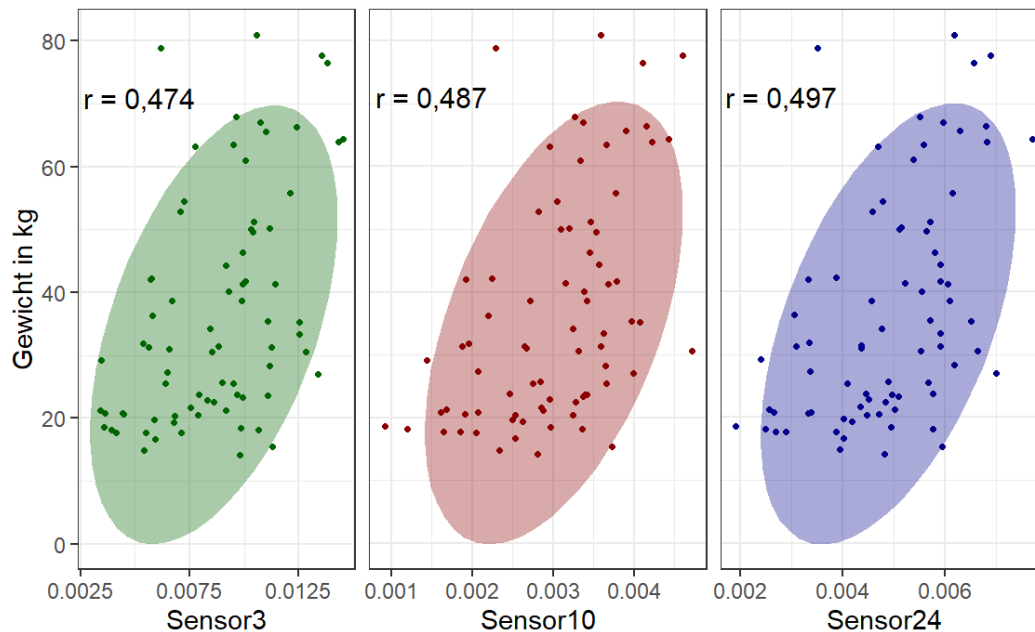
Abbildung 17: Korrelation der Sensorsignale mit dem Alter am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24. Die Rohdaten aller Sensoren korrelierten deutlich mit dem Alter der Kinder. Es sind die Korrelationskoeffizienten nach Pearson (r) angegeben. Die Ellipse umschließt jeweils 90% der Datenpunkte.



4.4.5.3 Gewicht

Die Korrelation der Sensorsignale mit dem Gewicht war vergleichbar mit der Alterskorrelation (p-Werte < 0,001).

Abbildung 18: Korrelation der Sensorsignale mit dem Gewicht am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24. Die Rohdaten aller Sensoren korrelierten deutlich mit dem Gewicht der Kinder. Es sind die Korrelationskoeffizienten nach Pearson (r) angegeben. Die Ellipse umschließt jeweils 90% der Datenpunkte.



4.4.6 Unterschiede nach Altersadjustierung

Aufgrund der hohen Korrelation aller Sensoren mit dem Alter, wurden lineare Modelle erstellt, um für das Alter zu adjustieren. Alle bisher unter 4.3 aufgeführten Analysen wurden im Anschluss erneut mit den altersadjustierten Sensordaten durchgeführt.

4.4.6.1 Fälle versus gesunde Kontrollen

Die Unterschiede der Sensorsignale zwischen Fällen und gesunden Kontrollen waren nach der Altersadjustierung weiterhin nicht signifikant (p-Werte $\geq 0,37$).

4.4.6.2 Asthmatiker versus gesunde Kontrollen

Nach der Altersadjustierung zeigten auch die zuvor signifikant unterschiedlichen Sensoren keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen Asthmatikern und gesunden Kontrollen (p-Werte $\geq 0,18$).

Tabelle 15: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit Asthma und von gesunden Kontrollen nach Altersadjustierung.

Sensor	Differenz	p-Wert
Sensor3	0,00022	0,23
Sensor9	0,00014	0,18
Sensor11	0,00004	0,18
Sensor12	0,00009	0,20
Sensor25	0,00012	0,18
Sensor29	0,00015	0,20

4.4.6.3 *Wheeze* versus gesunde Kontrollen

Ebenso zeigten nach der Altersadjustierung auch die zuvor signifikant unterschiedlichen Sensoren keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen (p-Werte $\geq 0,45$).

Tabelle 16: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit *wheeze* und von gesunden Kontrollen nach Altersadjustierung.

Sensor	Differenz	p-Wert
Sensor10	0,00004	0,63
Sensor28	0,00020	0,56
Sensor30	0,00004	0,59

4.4.6.4 *Episodic viral wheeze* versus *multi-trigger wheeze*

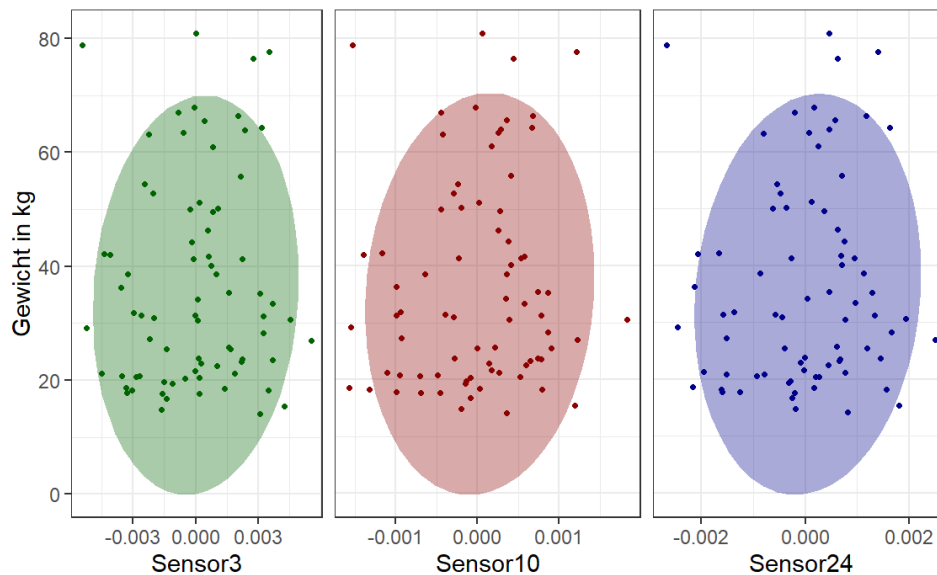
Die Unterschiede der Sensorsignale zwischen Kindern mit *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* waren weiterhin nicht signifikant (p-Werte $\geq 0,62$).

4.4.6.5 Geschlecht, Alter, Gewicht

Die Sensorsignale zeigten auch nach Altersadjustierung keine signifikanten Unterschiede zwischen Mädchen und Jungen (p-Werte $\geq 0,23$).

Neben der fehlenden Alterskorrelation nach der Adjustierung war auch für das Gewicht keine signifikante Korrelation mit den Sensorsignalen mehr nachweisbar (p-Werte $\geq 0,42$).

Abbildung 19: Keine nachweisbare signifikante Korrelation der Sensorsignale mit dem Gewicht nach Altersadjustierung der Sensorrohdaten am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24. Die Ellipse umschließt jeweils 90% der Datenpunkte.



4.4.7 Zusammenfassung

Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Rohdaten der Sensorsignale zwischen gesunden Kontrollen und Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen ermittelt werden. Sensorsignale zeigten jedoch eine hohe Korrelation mit dem Alter, die durch Altersadjustierung der Sensordaten ausgeglichen wurde. Weder Geschlecht noch Gewicht hatten einen signifikanten Einfluss auf die Sensorsignale.

4.5 Hauptkomponentenanalyse und lineare Diskriminanzanalyse

Da einzelne Sensorsignale nicht in der Lage waren, zwischen verschiedenen Gruppen zu unterscheiden, sollten im nächsten Schritt die Informationen verschiedener Sensoren kombiniert werden, um zu untersuchen, ob die Kombination der Sensorsignale zu charakteristischen Mustern und somit zu einer Differenzierung führt. Gleichzeitig war das Ziel, hiermit eine Reduktion auf eine möglichst geringe Anzahl an Variablen zu erreichen, die dennoch den Großteil der Varianz des ursprünglichen Datensatzes repräsentieren sollten. So wurde eine Hauptkomponentenanalyse mit den altersadjustierten Daten von insgesamt 28 Sensoren durchgeführt. Anschließend wurde mit den errechneten Hauptkomponenten eine lineare Diskriminanzanalyse durchgeführt, um die Fähigkeit zur Unterscheidung zwischen den Gruppen zu testen.

4.5.1 Fälle versus gesunde Kontrollen

4.5.1.1 Einschluss des gesamten Datensatzes

Zunächst wurde ermittelt, welche Hauptkomponenten (*principal component*, PC) den weiteren Analysen zugeführt werden sollten. Da alle Komponenten eingeschlossen werden sollten, deren Varianzanteil bei mindestens 0,1% lag, entsprach dies den ersten fünf Hauptkomponenten. Die fünf Komponenten erfassten gemeinsam 99,47% der Varianz des ursprünglichen Datensatzes.

Tabelle 17: Eigenwerte und Varianz der Hauptkomponenten

Hauptkomponente	Standardabweichung	Eigenwerte	Anteil an der Gesamtvarianz	Kumulative Varianz
PC1	5,2126	27,1715	97,04%	97,04%
PC2	0,6067	0,3681	1,31%	98,36%
PC3	0,4475	0,2003	0,72%	99,07%
PC4	0,2439	0,0595	0,21%	99,28%
PC5	0,2272	0,0516	0,18%	99,47%
PC6	0,1441	0,0208	0,07%	99,54%
PC7	0,1349	0,0182	0,06%	99,61%
PC8	0,1186	0,0141	0,05%	99,66%
PC9	0,1133	0,0128	0,05%	99,70%
PC10	0,1055	0,0111	0,04%	99,74%
PC11	0,0935	0,0087	0,03%	99,77%
PC12	0,0905	0,0082	0,03%	99,80%
PC13	0,0872	0,0076	0,03%	99,83%
PC14	0,0817	0,0067	0,02%	99,85%
PC15	0,0784	0,0061	0,02%	99,88%
PC16	0,0737	0,0054	0,02%	99,90%
PC17	0,0674	0,0045	0,02%	99,91%
PC18	0,0643	0,0041	0,01%	99,93%
PC19	0,0627	0,0039	0,01%	99,94%
PC20	0,0551	0,0030	0,01%	99,95%
PC21	0,0540	0,0029	0,01%	99,96%
PC22	0,0506	0,0026	0,01%	99,97%
PC23	0,0483	0,0023	0,01%	99,98%
PC24	0,0398	0,0016	0,01%	99,98%
PC25	0,0390	0,0015	0,01%	99,99%
PC26	0,0359	0,0013	0,00%	99,99%
PC27	0,0289	0,0008	0,00%	100,00%
PC28	0,0240	0,0006	0,00%	100,00%

Im anschließenden Welch-Test zeigte ausschließlich die zweite Hauptkomponente einen signifikanten Unterschied zwischen Fällen und gesunden Kontrollen (p-Wert = 0,031).

Tabelle 18: Welch-Test auf Unterschiede in den Hauptkomponenten von Fällen und gesunden Kontrollen

Hauptkomponente	Differenz	p-Wert
PC1	0,08545	0,73
PC2	0,05936	0,03
PC3	0,02981	0,24
PC4	0,00686	0,54
PC5	0,01118	0,35

Abbildung 20: Graphische Darstellung der individuellen Werte der ersten fünf Hauptkomponenten von Fällen und gesunden Kontrollen. Die zweite Hauptkomponente unterschied sich signifikant beim Vergleich von Fällen mit gesunden Kontrollen ($p \leq 0,05$).

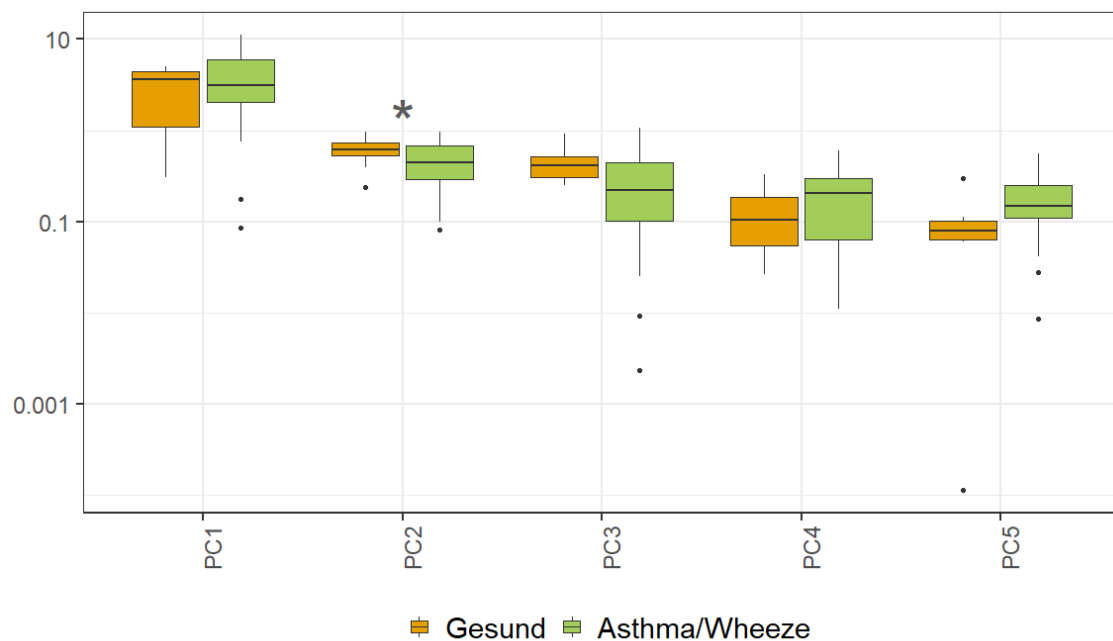
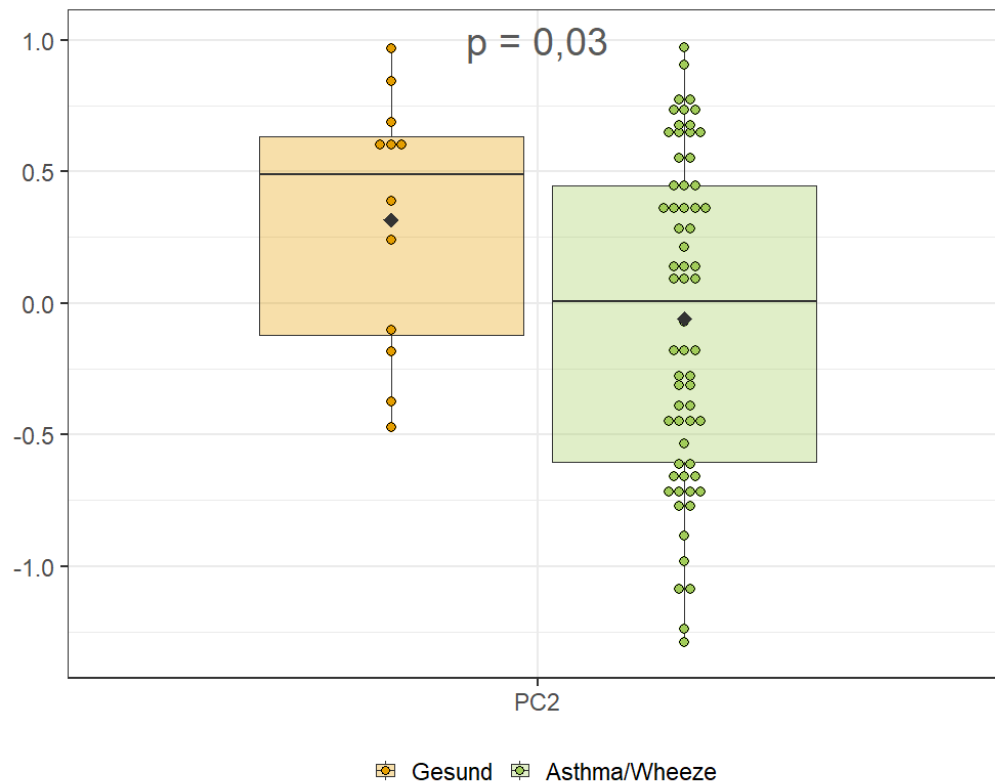
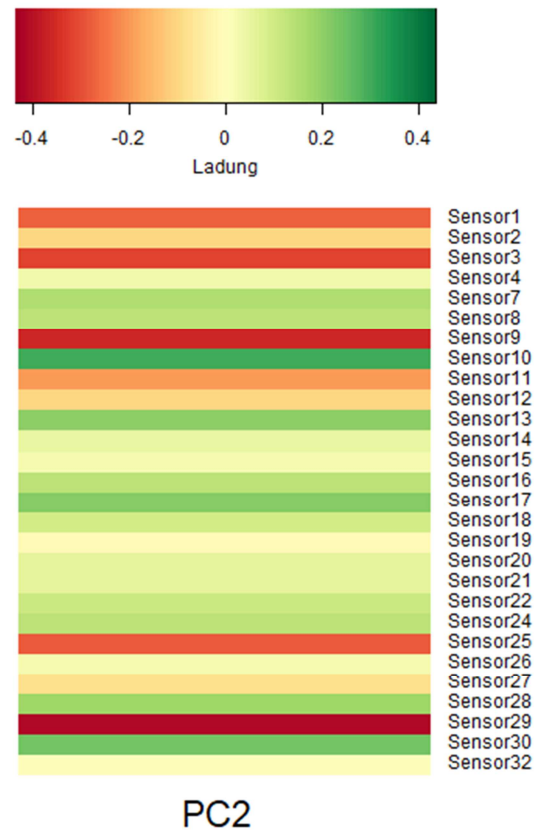


Abbildung 21: Graphische Darstellung der individuellen Werte der zweiten Hauptkomponente von Fällen und gesunden Kontrollen. Die schwarze Raute stellt den Mittelwert dar.



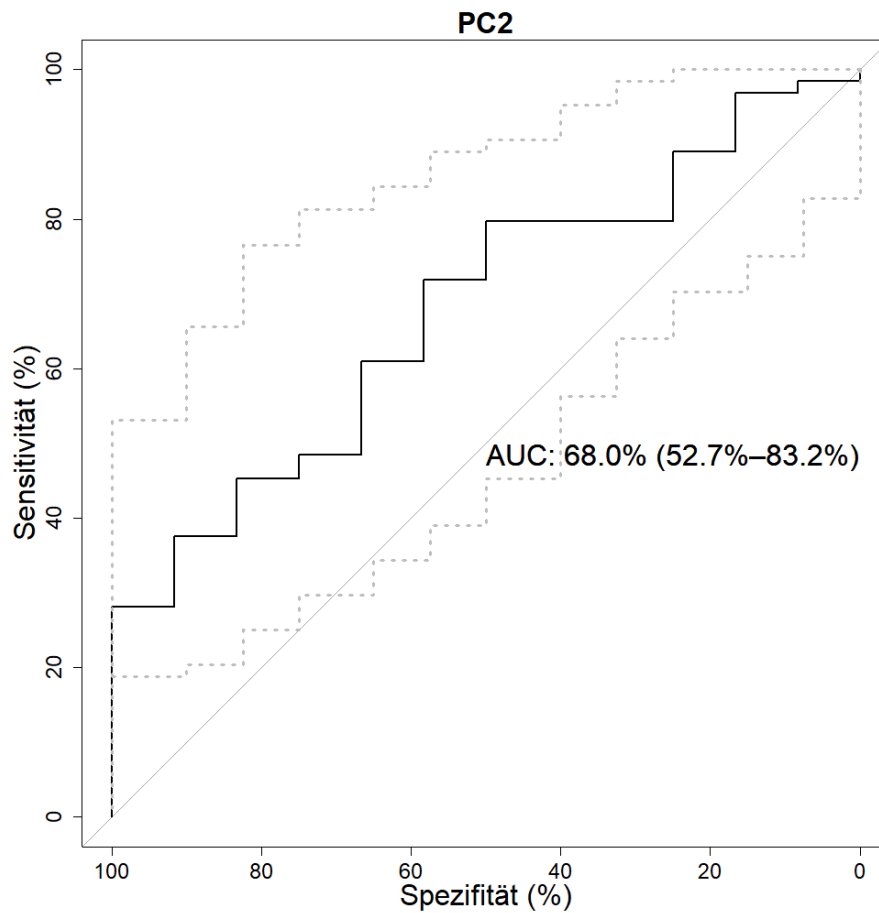
Die Ladungsmatrix einer Hauptkomponente (siehe Abbildung 22) gibt an, mit welchem Faktor die einzelnen Sensoren jeweils in die Komponente eingehen. Die Werte der Ladungen entsprechen demnach den Korrelationskoeffizienten in der linearen Funktion, mit der die Hauptkomponenten aus den Sensordaten berechnet werden. Sensor 10 hatte den höchsten Einfluss mit einer Ladung von 0,3 und andere Sensoren mit verhältnismäßig hohen Ladungen waren die Sensoren 13, 17, 28 und 30. Gleichzeitig zeigten die Sensoren 1, 3, 9, 25 und 29 deutlich negative Ladungen bis -0,4. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass kein Sensor einen hohen Einfluss auf die Komponente hatte, da grundsätzlich Ladungen bis 1 möglich wären und die Werte maximal 0,3 bis 0,4 erreichten. Die zweite Hauptkomponente stellte demnach eine Kombination aus Informationen von vielen verschiedenen Sensoren dar und konnte nicht klar einer Teilmenge von Sensoren zugeordnet werden.

Abbildung 22: Ladungsmaxtrix für die zweite Hauptkomponente. Grüne Farben signalisieren Sensoren, deren Wert einen positiven Beitrag zum Wert der Hauptkomponente leisten, Sensoren mit roter Kennzeichnung fließen mit negativem Vorzeichen in die Berechnung ein.



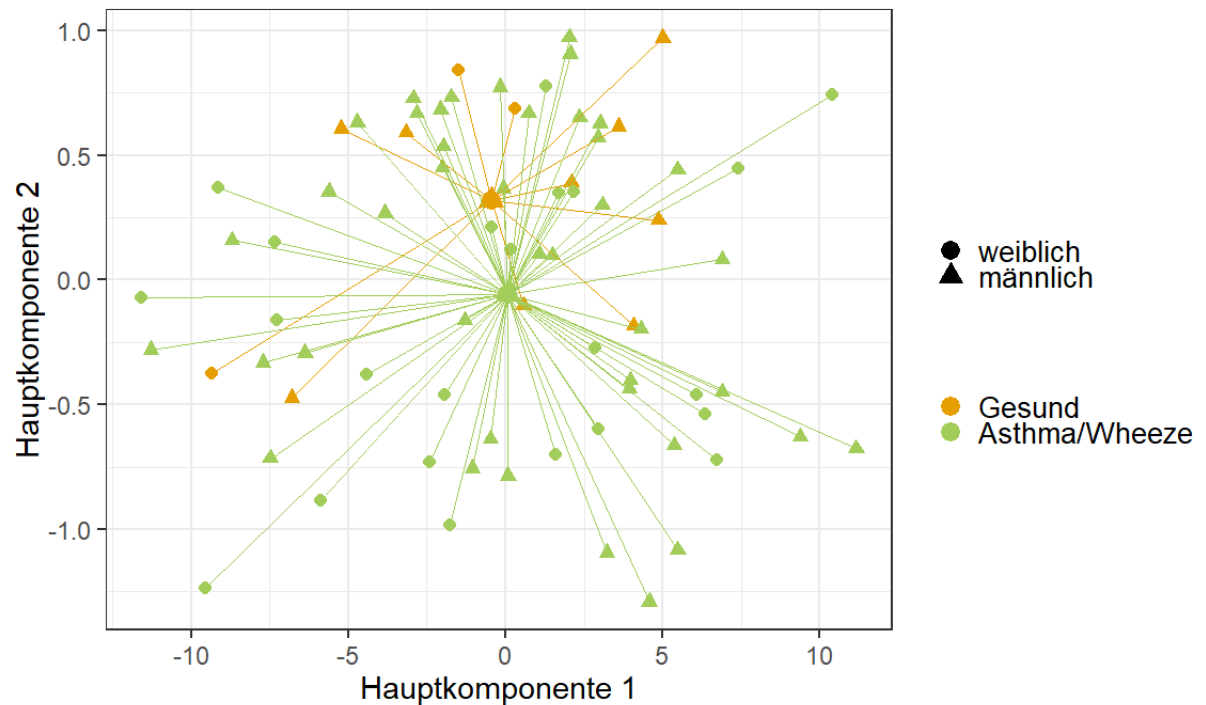
Wurden die jeweiligen Gruppenzugehörigkeiten der Kinder anhand des Wertes der zweiten Hauptkomponente bestimmt und die Ergebnisse anschließend in einer ROC-Kurve dargestellt, zeigte sich eine Trennschärfe mit einer *area under the curve* (AUC) von 0,68 (95% Konfidenzintervall (KI): 0,53 – 0,83).

Abbildung 23: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve für die Unterscheidung zwischen Fällen und gesunden Kontrollen unter Verwendung der zweiten Hauptkomponente



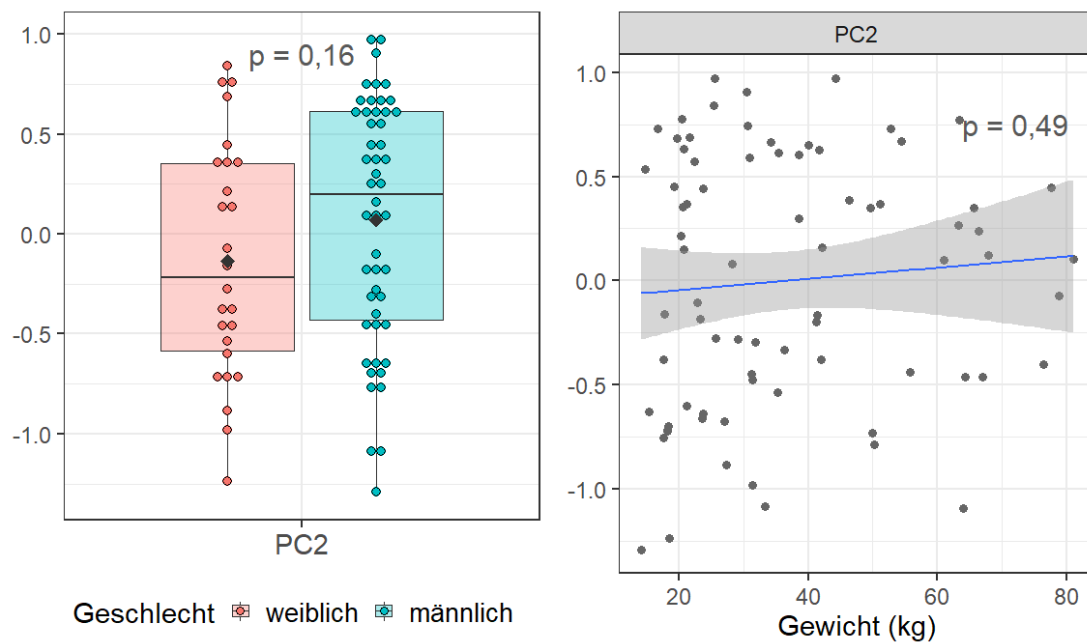
Auch in der graphischen Darstellung der ersten und zweiten Hauptkomponente konnte trotz des signifikanten Unterschiedes in der zweiten Hauptkomponente keine klare Abgrenzung der beiden Gruppen beobachtet werden.

Abbildung 24: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und zweiten Hauptkomponenten für Fälle und gesunde Kontrollen. Unterschiede für Hauptkomponente 2 waren signifikant ($p = 0,03$). Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



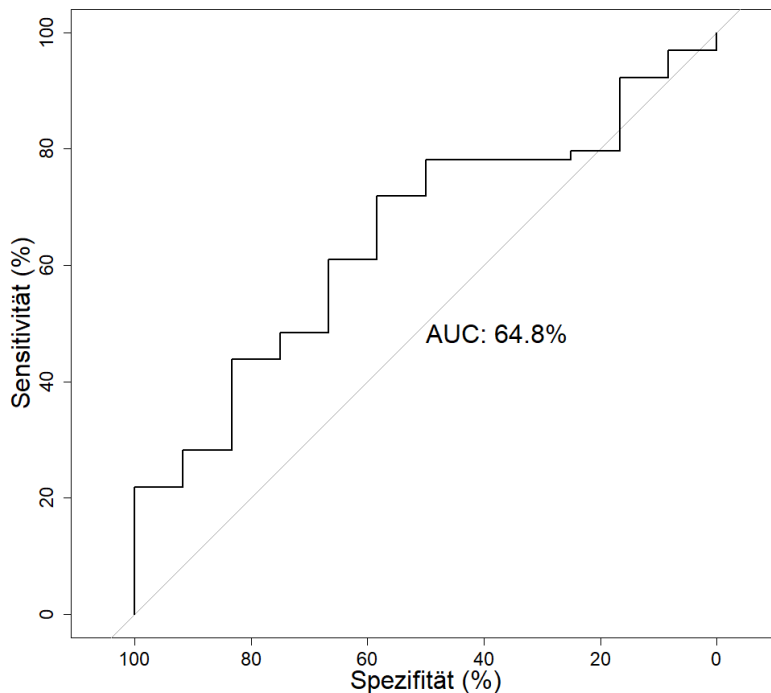
Zudem wurden möglich Störeinflüsse auf die Komponente getestet. Die zweite Hauptkomponente war jedoch statistisch unabhängig von Geschlecht (p -Wert = 0,16) und Gewicht (p -Wert = 0,49).

Abbildung 25: Hauptkomponente 2, Einfluss des Geschlechts und Korrelation mit dem Gewicht



Anschließend wurde mit der zweiten Hauptkomponente eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt und ihre Diskriminationsfähigkeit mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet. Im Folgenden ist das Ergebnis anhand einer ROC-Kurve dargestellt. Eine Unterscheidung zwischen Fällen und gesunden Kontrollen war begrenzt möglich mit einer AUC von 0,65 und einer korrekten Klassifikation von 58%.

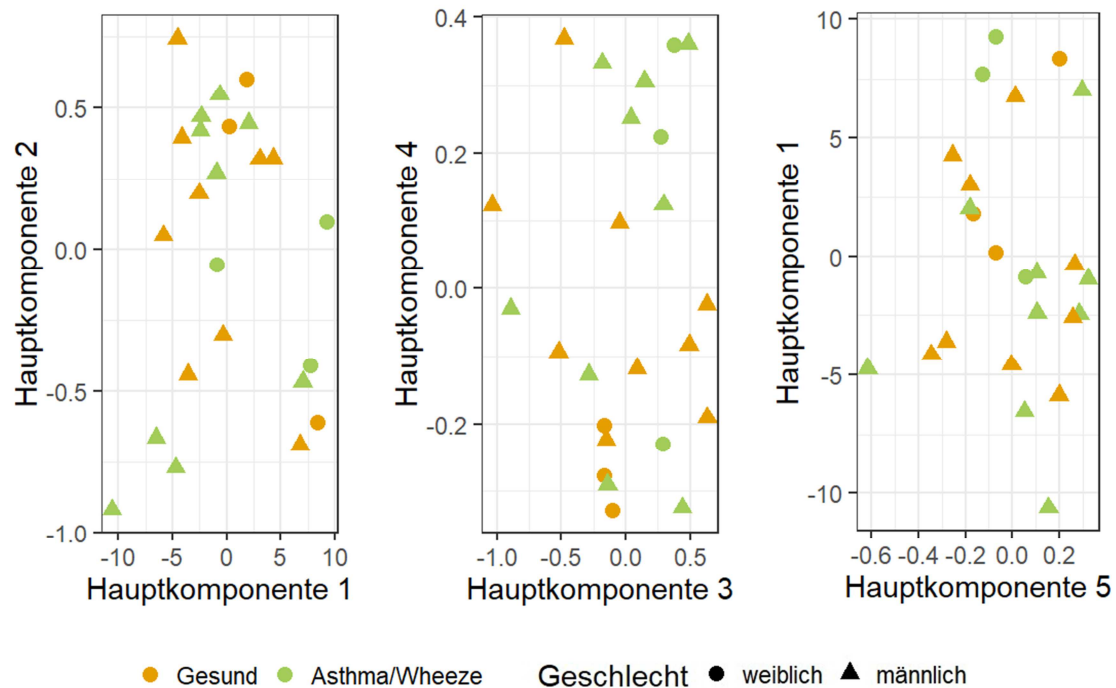
Abbildung 26: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Fälle versus gesunde Kontrollen



4.5.1.2 Paarbildung anhand von Alter und Geschlecht

Da die Gruppenstärken bei Einschluss aller Kinder stark unterschiedlich waren, sollten zusätzlich noch zwei homogene Gruppen untersucht werden. Nachdem jeder gesunden Kontrolle ein Fall mit gleichem Geschlecht und ähnlichem Alter zugeteilt worden war, ergaben sich zwei Gruppen mit je zwölf Kindern, darunter jeweils drei Mädchen und neun Jungen. Der Altersdurchschnitt betrug in beiden Gruppen 9,7 Jahre. Die in der Hauptkomponentenanalyse errechneten Komponenten zeigten eine Varianzverteilung, die vergleichbar mit der Verteilung in Tabelle 17 war. Gemeinsam beschrieben die ersten fünf Hauptkomponenten 99,64% der Gesamtvarianz, jedoch konnten für sie mittels Welch-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden (p -Werte $\geq 0,11$).

Abbildung 27: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Fälle und gesunde Kontrollen nach Paarbildung. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



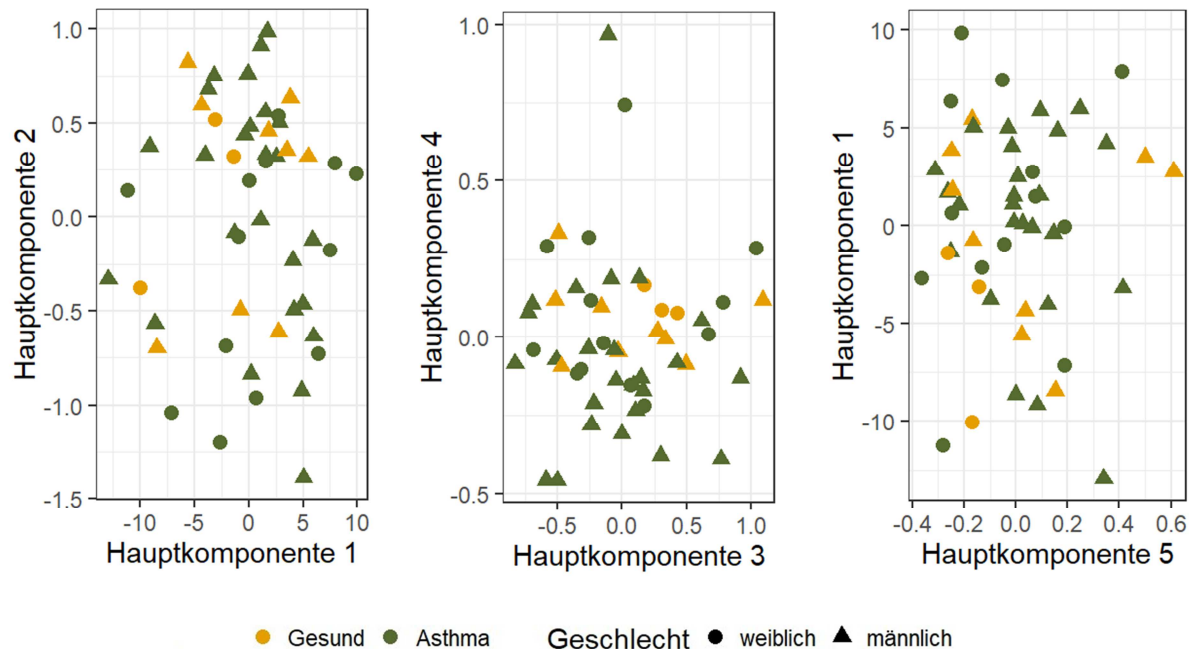
Unter Einschluss der fünf Hauptkomponenten wurde eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt, die in der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung nicht zwischen den zwölf Fällen und den zwölf gesunden Kontrollen unterscheiden konnte (AUC von 0,44).

4.5.2 Asthmatiker versus gesunde Kontrollen

4.5.2.1 Einschlussdiagnose Asthma

Die Varianzverteilung für die Hauptkomponenten beim Vergleich von Asthmatikern und gesunden Kontrollen ähnelte ebenfalls der Verteilung in Tabelle 17. Insgesamt beschrieben die ersten fünf Komponenten 99,40% der Varianz des ursprünglichen Datensatzes und zeigten keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Werte von Asthmatikern mit denen der gesunden Kontrollen (p -Werte $\geq 0,15$).

Abbildung 28: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker und gesunde Kontrollen. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



Unter Einschluss der fünf Hauptkomponenten wurde eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt, die in der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung nicht zwischen Asthmatikern und gesunden Kontrollen unterscheiden konnte (AUC von 0,45).

4.5.2.2 Zusätzlicher Einschluss von drei Kindern mit potenzieller Asthmadignose

Nach der nachträglichen Zuordnung von drei Kindern mit ursprünglicher Einschlussdiagnose *wheeze* zu der Gruppe der Asthmatiker, änderten sich die Ergebnisse nicht wesentlich. Eine Unterscheidung zwischen den Gruppen war nicht möglich (AUC von 0,47).

4.5.2.3 Stratifizierung nach der Therapie mit inhalativen Corticosteroiden

Asthmatiker mit aktueller ICS-Therapie ($n = 23$) und solche, die zu dem Zeitpunkt keine ICS-Therapie erhielten ($n = 15$), wurden voneinander getrennt jeweils mit der Gruppe der gesunden Kontrollen ($n = 12$) verglichen. Im Rahmen der Hauptkomponentenanalyse entstanden hierbei für beide Vergleiche ebenfalls keine sich signifikant unterscheidenden Hauptkomponenten (p -Werte $\geq 0,18$ für Asthmatiker

mit ICS-Therapie und p -Werte $\geq 0,34$ für Asthmatiker ohne ICS-Therapie). Eine Abgrenzung zu gesunden Kontrollen war also auch nicht möglich, wenn Asthmatiker stratifiziert nach ICS-Therapie analysiert wurden (AUC von 0,52 bzw. 0,31).

4.5.3 Wheeze versus gesunde Kontrollen

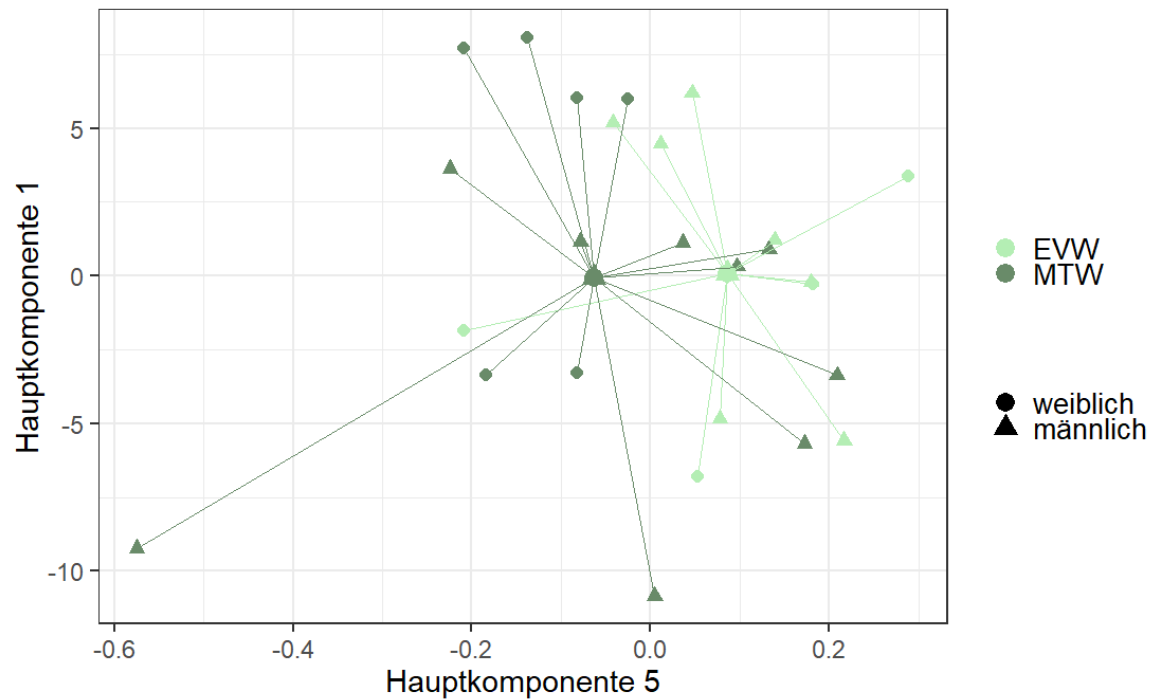
Der Vergleich von Kindern mit Einschlussdiagnose *wheeze* mit gesunden Kontrollen führte unter den ersten fünf Hauptkomponenten, die 99,59 % der Gesamtvarianz beschrieben, zu keiner sich zwischen den Gruppen signifikant unterscheidenden Hauptkomponente (p -Werte $\geq 0,18$). Eine Differenzierung zwischen Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen mittels elektronischer Nase war demnach in dieser Arbeit nicht möglich (AUC 0,43).

4.5.4 Episodic viral wheeze versus multi-trigger wheeze

4.5.4.1 Einschlussdiagnose wheeze

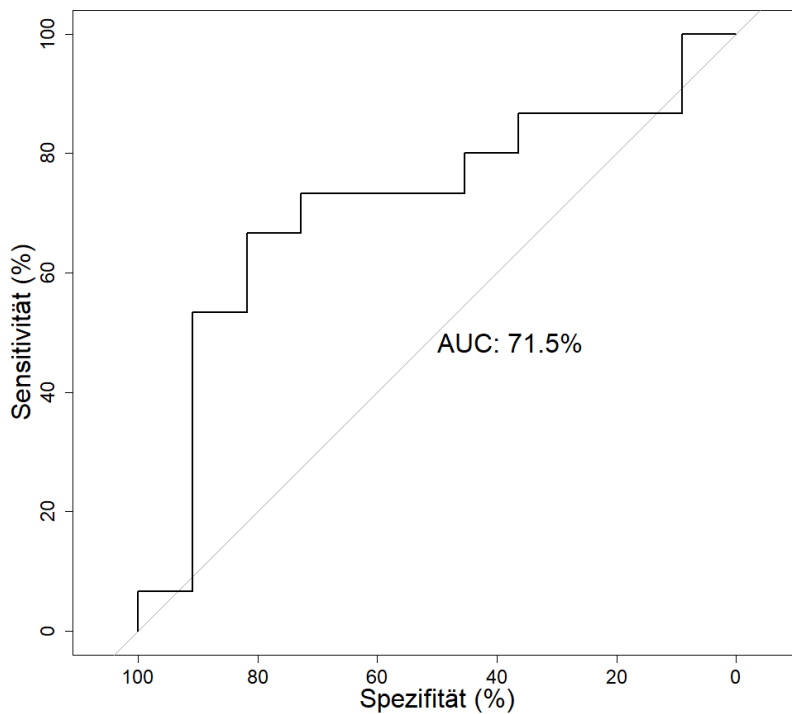
Nachdem die Hauptkomponentenanalyse auf die Sensorsignale aller Kinder mit Einschlussdiagnose *wheeze* angewendet und anschließend die ersten fünf Hauptkomponenten von Kindern mit aktuellem *episodic viral wheeze* bzw. *multi-trigger wheeze* miteinander verglichen worden waren, ergab sich für die fünfte Hauptkomponente ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (p -Wert = 0,03). Insgesamt deckten die ersten fünf Komponenten 99,67 % der Gesamtvarianz ab. In der ROC-Analyse zeigte sich für die fünfte Hauptkomponente eine AUC von 0,75 (95% KI: 0,55 – 0,95). Es war weder ein signifikanter Unterschied zwischen Mädchen und Jungen ($p = 0,38$), noch eine signifikante Korrelation mit dem Gewicht ($p = 0,65$) für die fünfte Hauptkomponente nachweisbar.

Abbildung 29: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und der fünften Hauptkomponente für Kinder mit *episodic viral wheeze* bzw. *multi-trigger wheeze*. Unterschiede für Hauptkomponente 5 waren signifikant ($p = 0,03$). Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



Mit der fünften Hauptkomponente wurde eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt und ihre Diskriminationsfähigkeit mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet. Das Ergebnis der anschließenden ROC-Analyse ist in Abbildung 30 dargestellt. Die Diskriminanzfunktion führte zu einer korrekten Klassifikation von 69% bei einer AUC von 0,72.

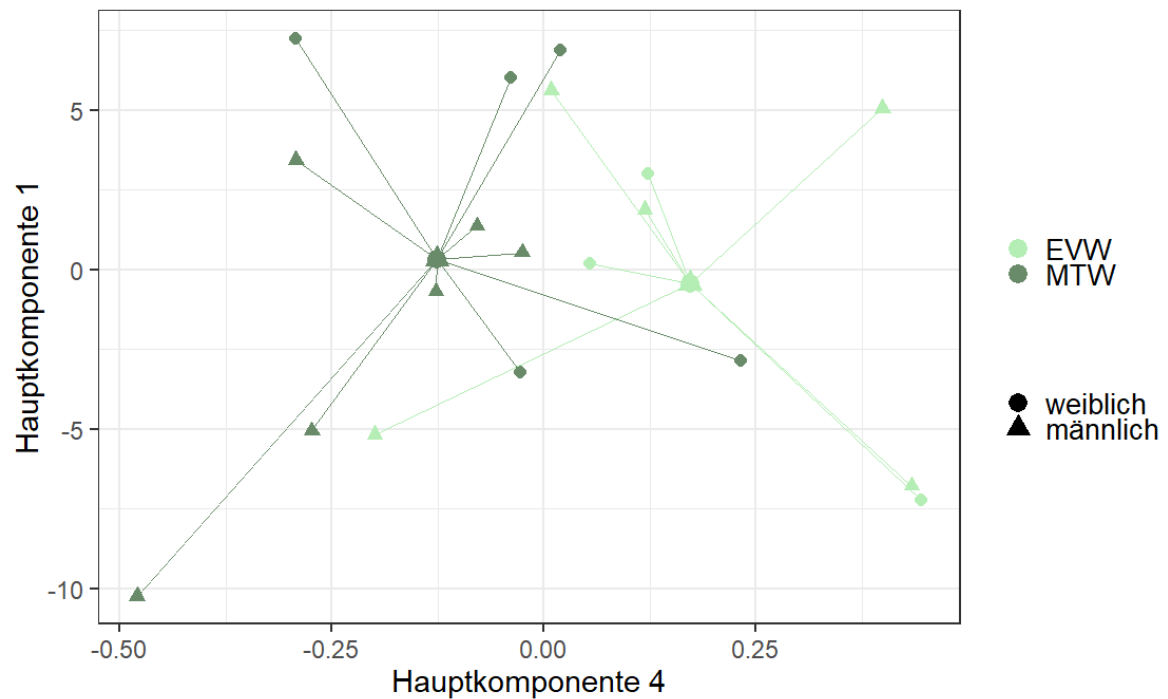
Abbildung 30: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: *episodic viral wheeze* versus *multi-trigger wheeze*



4.5.4.2 Kinder unter sechs Jahren mit *wheeze*

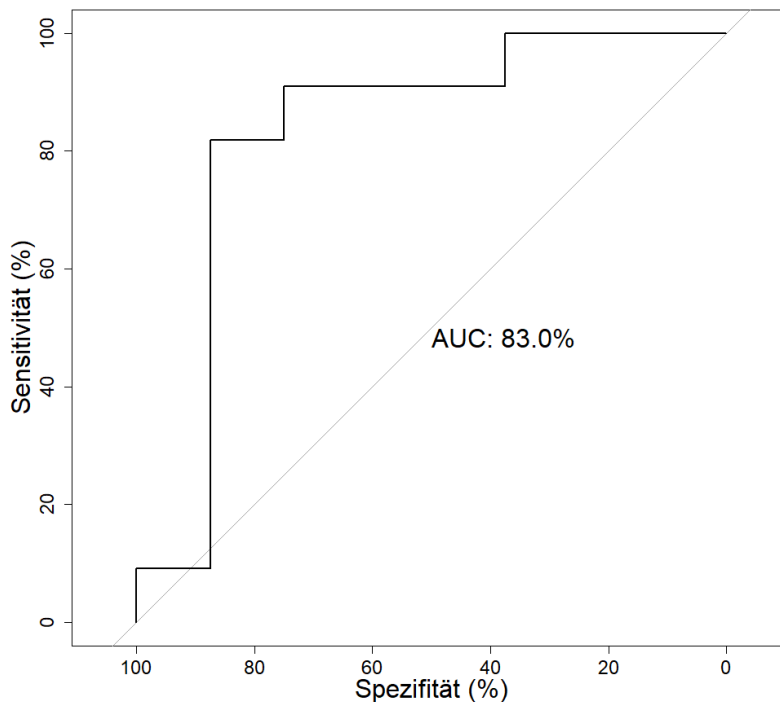
Wurden ausschließlich die Daten von Kindern mit *wheeze* unter sechs Jahren betrachtet, beschrieben die ersten fünf Hauptkomponenten 99,71% der Gesamtvarianz und die vierte Hauptkomponente zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* (p-Wert = 0,01). Die AUC in der ROC-Analyse lag bei dieser Einteilung bei 0,86 (95% KI: 0,68 – 1) und war damit höher als beim zusätzlichen Einschluss von Kindern über sechs Jahren. Es konnte kein signifikanter Einfluss des Geschlechts (p-Wert = 0,34) oder des Gewichts (p-Wert = 0,80) auf die vierte Hauptkomponente nachgewiesen werden.

Abbildung 31: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und der vierten Hauptkomponenten für Kinder mit *episodic viral wheeze* bzw. *multi-trigger wheeze* unter sechs Jahren. Unterschiede für Hauptkomponente 4 waren signifikant ($p = 0,01$). Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



Anschließend wurde mit der vierten Hauptkomponente eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt und ihre Diskriminationsfähigkeit mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet (siehe folgende ROC Kurve). Die Funktion führte in 79% der Fälle zu einer korrekten Klassifikation bei einer AUC von 0,83.

Abbildung 32: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: *episodic viral wheeze* versus *multi-trigger wheeze*, unter sechs Jahren

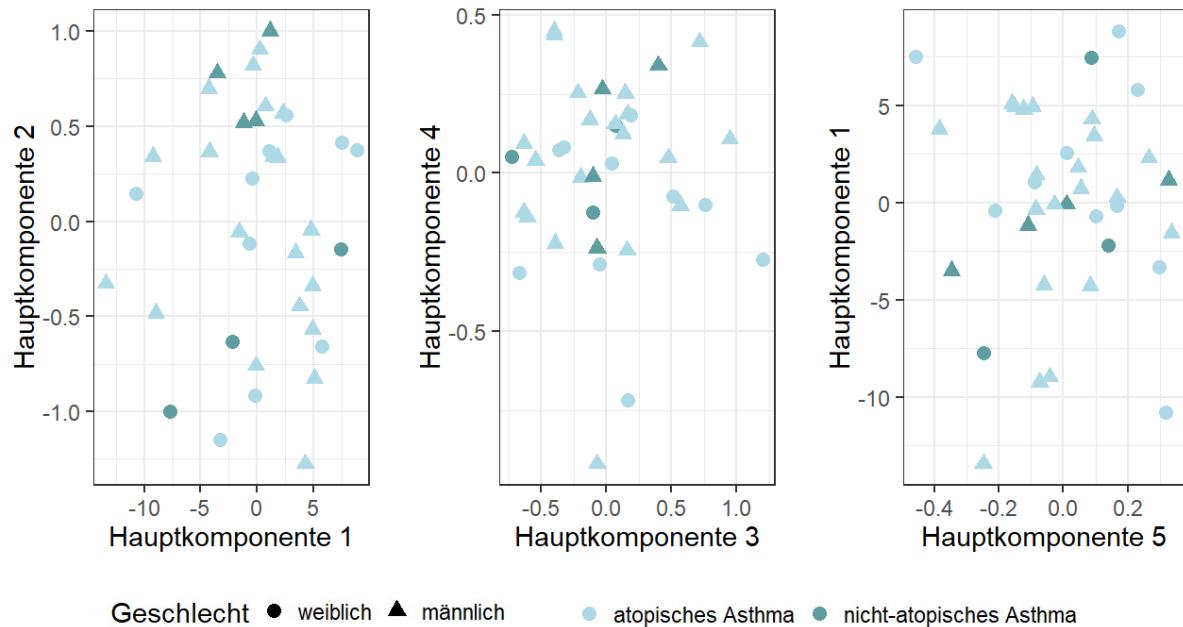


4.5.5 Atopie

4.5.5.1 Atopisches versus nicht-atopisches Asthma

Signifikante Unterschiede zwischen Kindern mit atopischem Asthma und Asthmatikern ohne Atopie zeigten sich für keine der ersten fünf Hauptkomponenten, die einen Anteil von 99,43 % der Gesamtvarianz repräsentierten (p -Werte $\geq 0,43$). Eine korrekte Differenzierung zwischen atopischem Asthma und nicht-atopischem Asthma mittels elektronischer Nase war demnach nicht möglich (AUC von 0,22). Wurden die Werte der spezifischen IgEs addiert, um eine kontinuierliche Variable für Atopie zu erhalten, konnte auch keine signifikante Korrelation mit den Hauptkomponenten nachgewiesen werden.

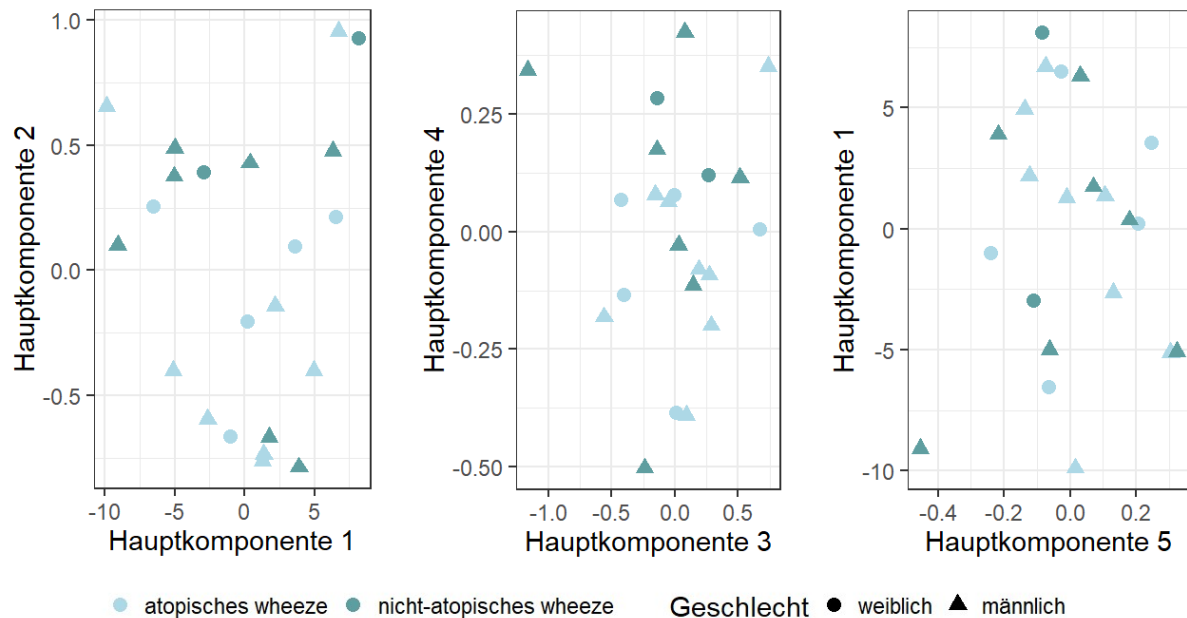
Abbildung 33: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Kinder mit atopischem bzw. nicht-atopischem Asthma. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



4.5.5.2 Atopisches versus nicht-atopisches *wheeze*

Innerhalb der Kinder mit *wheeze* zeigte ebenfalls keine der ersten fünf Hauptkomponenten (erklärte Varianz von 99,68%) signifikante Unterschiede zwischen Kindern mit und ohne Atopie (p -Werte $\geq 0,18$). Demnach war auch eine Diskriminierung der *breathprints* von Kindern mit atopischem bzw. nicht-atopischem *wheeze* nicht möglich (AUC von 0,46). Zudem zeigten auch die addierten spezifischen IgE-Werte keine signifikante Korrelation mit den Hauptkomponenten.

Abbildung 34: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Kinder mit atopischem bzw. nicht-atopischem wheeze. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



4.5.5.3 Atopische versus nicht-atopische Fälle

Der Vergleich von allen Fällen mit erhöhten spezifischen IgE-Werten mit den Fällen ohne nachgewiesene Sensibilisierung führte anhand der ersten fünf Hauptkomponenten, die 99,48 % der Gesamtvarianz repräsentierten, zu keiner signifikanten Unterscheidung (p -Werte $\geq 0,24$). Auch wenn alle Fälle gemeinsam betrachtet wurden, konnte die elektronische Nase demnach nicht korrekt zwischen den Gruppen *atopisch* und *nicht-atopisch* unterscheiden (AUC von 0,37). Die Summe der spezifischen IgE-Werte zeigte ebenfalls keine signifikante Korrelation mit den Hauptkomponenten.

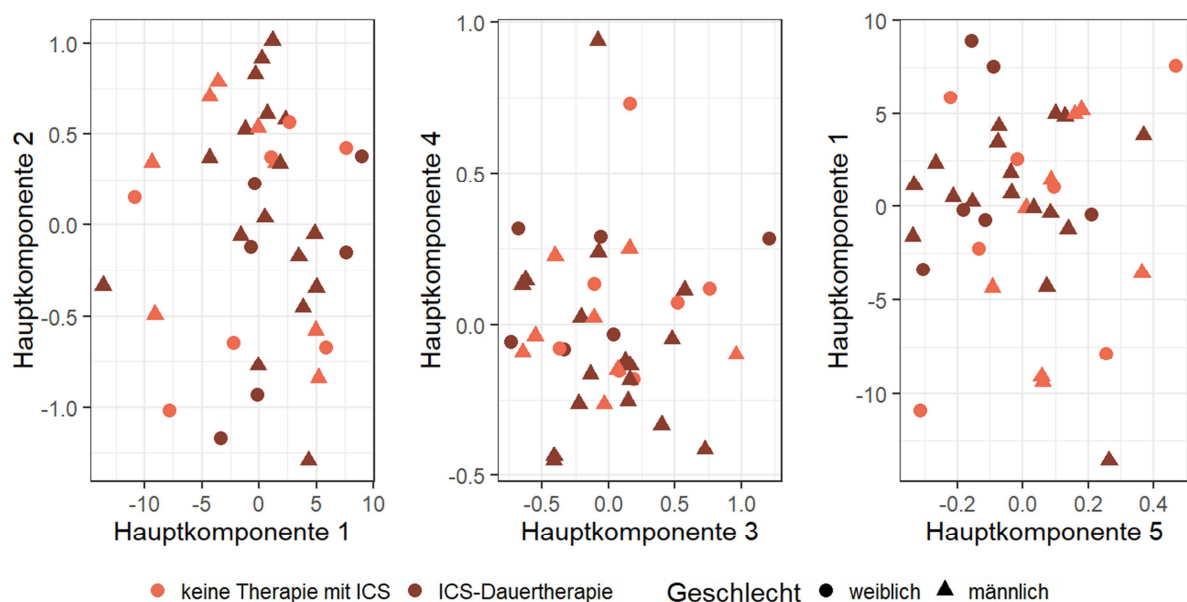
4.5.6 Asthma-Schweregrad

4.5.6.1 Dauertherapie mit inhalativen Corticosteroiden

Für die Unterscheidung von verschiedenen Schweregraden wurden die Asthmatiker zunächst anhand der medikamentösen Therapie innerhalb der letzten vier Wochen in zwei Gruppen eingeteilt. Die Kinder der Gruppe mit mildem Asthma ($n = 15$) erhielten keine Dauertherapie mit inhalativen Corticosteroiden, sondern ausschließlich kurzwirksame β_2 -Sympathomimetika bei Bedarf entsprechend der Stufe 1 im

medikamentösen Stufenschema [13, 14]. Unabhängig von der verschriebenen Dosis wurden alle Kinder, die unter ICS-Dauertherapie standen, in der zweiten Gruppe zusammengefasst. Die ersten fünf Hauptkomponenten erfassten 99,42 % der ursprünglichen Gesamtvarianz und beim Vergleich der beiden Gruppen konnte keine Hauptkomponente ermittelt werden, die sich signifikant unterschied (p -Werte $\geq 0,13$). Eine Identifikation von Asthmatikern, die eine ICS-Therapie benötigen, war anhand der VOC-Profile demnach nicht möglich (AUC von 0,51).

Abbildung 35: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker mit bzw. ohne ICS-Therapie. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.

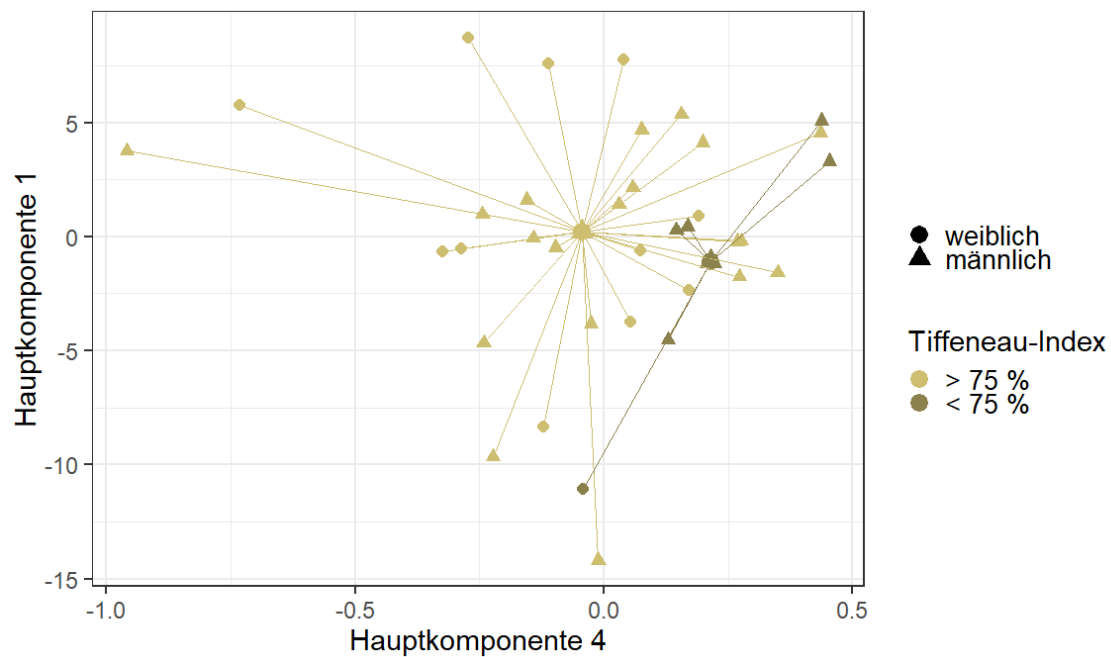


4.5.6.2 Tiffeneau-Index

Alle Kinder mit Asthma wurden außerdem anhand des in der Lungenfunktion ermittelten Tiffeneau-Indexes in eine Gruppe mit bronchialer Obstruktion (Tiffeneau-Index < 75 %) und eine mit unauffälligem Tiffeneau-Index eingeteilt. Die ersten fünf Hauptkomponenten beschrieben 99,41 % der Varianz des Datensatzes. Hier zeigte sich für die vierte Hauptkomponente ein signifikanter Unterschied (p -Wert = 0,02) und in der ROC-Kurve eine AUC von 0,76 (95% KI: 0,56 – 0,96). Die vierte Hauptkomponente zeigte nur einen Trend bezüglich eines Geschlechterunterschiedes (p -Wert = 0,09) und keine Gewichts-Korrelation (p -Wert = 0,76). Die Unterschiede in der Geschlechterverteilung (17 % versus 37 % Mädchen) der beiden Gruppen waren nicht signifikant (p -Wert = 0,64). Wurde der Tiffeneau-Index als kontinuierliche Variable

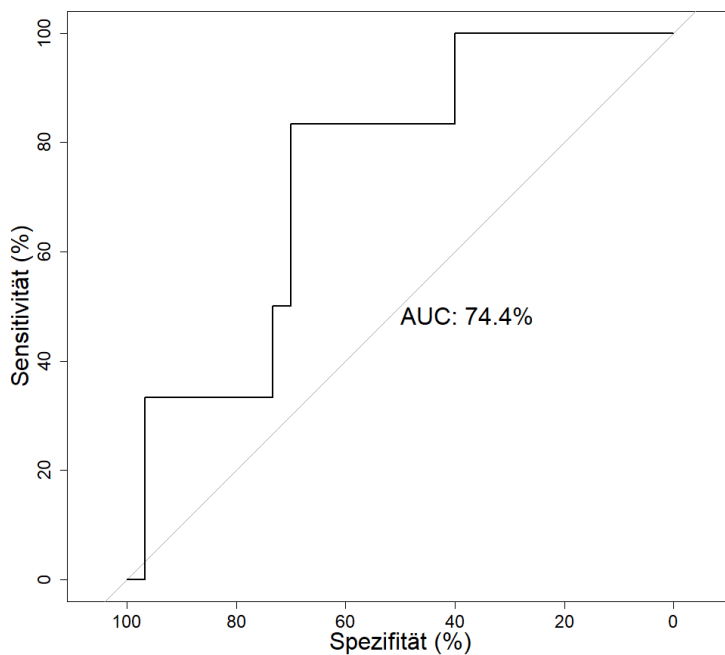
betrachtet, zeigten die zweite und die fünfte Komponente einen Trend zur Korrelation (p -Wert = 0,09 bzw. 0,07).

Abbildung 36: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und vierten Hauptkomponente für Kinder mit Tiffeneau-Index < 75% bzw. > 75%. Unterschiede für Hauptkomponente 4 waren signifikant ($p = 0,02$). Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



Mit der vierten Hauptkomponente wurde eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt und ihre Diskriminationsfähigkeit mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet. In der ROC-Analyse zeigte sich eine AUC von 0,74 und der Anteil der korrekten Klassifikation lag bei 72%.

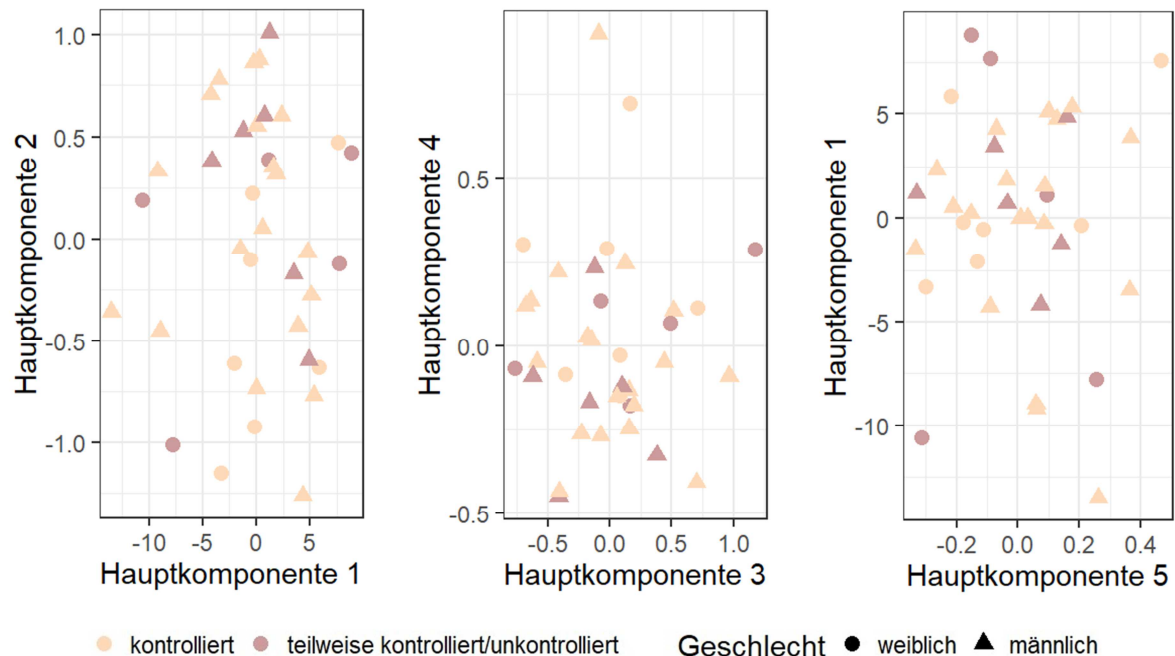
Abbildung 37: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Kinder mit Tiffeneau-Index < 75% versus Tiffeneau-Index > 75%



4.5.6.3 Grad der Asthmakontrolle nach GINA-Kriterien

Nach der Dichotomisierung des Grades der Asthmakontrolle entsprechend der GINA-Leitlinien in den Status *kontrolliert* einerseits und *teilweise kontrolliert* oder *unkontrolliert* andererseits, konnten unter den ersten fünf Hauptkomponenten, die 99,45 % der Gesamtvarianz ausmachten, keine signifikant unterschiedlichen Hauptkomponenten zwischen den beiden Gruppen ermittelt werden (p -Werte $\geq 0,33$). Kinder mit nur teilweise kontrolliertem oder unkontrolliertem Asthma konnten demnach nicht anhand ihrer *breathprints* identifiziert werden (AUC von 0,33).

Abbildung 38: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker mit kontrolliertem bzw. teilweise kontrolliertem/unkontrolliertem Grad der Asthmakontrolle. Eine Abgrenzung der Gruppen war nicht möglich. Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.

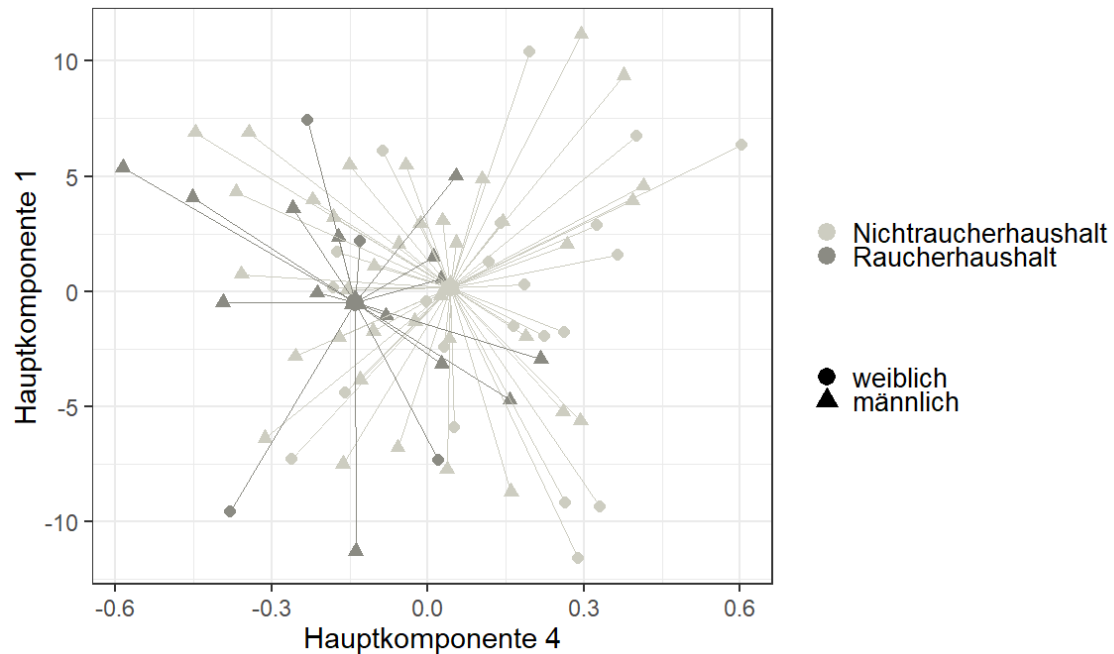


4.5.7 Rauchen im Haushalt

Beim Vergleich von Kindern aus einem Raucherhaushalt mit Kindern ohne Raucher in der Familie beschrieben die ersten fünf Hauptkomponenten 99,47 % der Gesamtvarianz des ursprünglichen Datensatzes. Der Welch-Test ergab für die vierte Hauptkomponente einen signifikanten Unterschied (p -Wert = 0,005). In der ROC-Kurve lag die AUC bei 0,71 (95% KI: 0,58 – 0,84). Die vierte Hauptkomponente zeigte zusätzlich einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern (p -Wert = 0,02) bei fehlender Korrelation mit dem Gewicht (p -Wert = 0,46). In der Gruppe der Kinder aus einem Raucherhaushalt lag der Anteil der Mädchen bei 38 %, in der Gruppe der Kinder aus einem Nichtraucherhaushalt bei 22 %. Diese Unterschiede in der Geschlechterverteilung der beiden Gruppen waren jedoch nicht signifikant (p -Wert = 0,27).

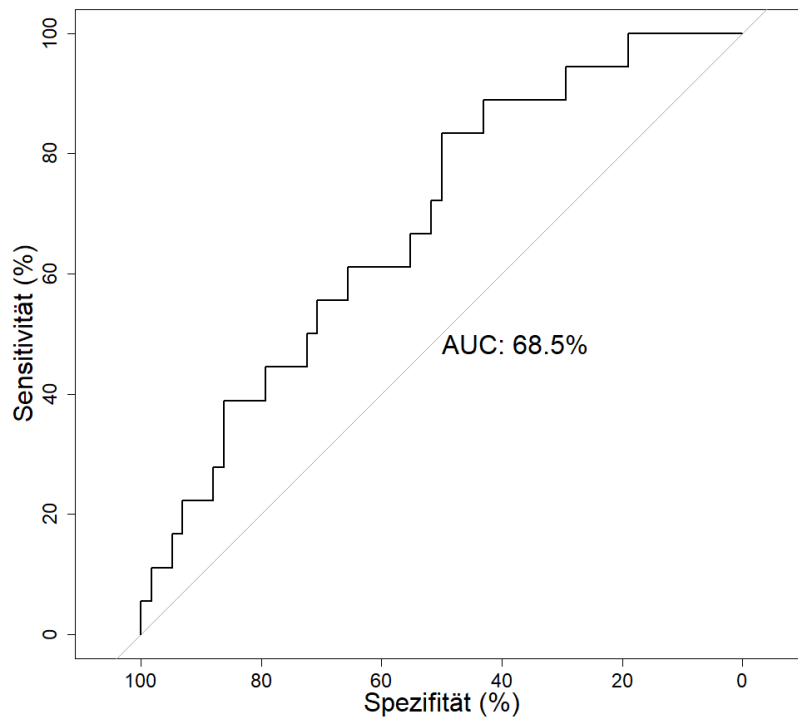
Abbildung 39: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und vierten Hauptkomponente für Kinder aus einem Raucher- bzw. Nichtraucherhaushalt.

Unterschiede für Hauptkomponente 4 waren signifikant ($p = 0,005$). Die Gruppenzugehörigkeit ist farblich markiert, das Geschlecht spiegelt sich in den verwendeten Symbolen wider.



Anschließend wurde mit der vierten Hauptkomponente eine lineare Diskriminanzfunktion erstellt und ihre Diskriminationsfähigkeit mittels Leave-One-Out-Kreuzvalidierung getestet. Abbildung 40 zeigt die entsprechende ROC-Kurve mit einer AUC von 0,69. Die Zuordnung war in 76% der Fälle korrekt.

Abbildung 40: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Kinder aus einem Raucherhaushalt versus Kinder aus einem Nichtraucherhaushalt



5 Diskussion

Asthma ist in der Pädiatrie die chronische Erkrankung mit der höchsten Prävalenz und trotz intensiver internationaler Forschungsbemühungen bleiben die Diagnosestellung, die Phänotypisierung und die Prognose des individuellen Verlaufs besonders im Kindesalter komplex. Es besteht große Hoffnung, dass Analysen von VOCs in der Ausatemluft durch einen zukünftigen klinischen Einsatz in der Versorgung von Asthmatikern zu einer Verbesserung der Diagnosestellung, der Definition von Untergruppen und des Therapiemanagements beitragen werden [113, 155, 193]. Jedoch fehlen insbesondere Studien zur Anwendung der eNose im Kindesalter, obwohl die Anzahl der Studien und Publikationen zu *breathomics* in den letzten zehn Jahren rapide zugenommen hat.

In dieser Arbeit sollten zunächst die Methoden zur VOC-Analyse mittels eNose in der bereits bestehenden KIRA-Studie etabliert werden und anschließend untersucht werden, ob anhand der gemessenen *breathprints* Kinder mit obstruktiven Atemwegserkrankungen von gesunden Kontrollen unterschieden werden können und ob zudem eine Charakterisierung von Asthma bzw. *wheeze*-Phänotypen möglich ist. Obwohl die Messung erfolgreich in den Ablauf der KIRA-Studie integriert werden konnte und auch die Methode zur Sammlung der Ausatemluft eine gute Machbarkeit aufwies, konnten die vielversprechenden Ergebnisse bisheriger Studien in dieser Arbeit nicht bestätigt werden.

Im Folgenden werden die in dieser Studie verwendeten Methoden und die Ergebnisse der Messungen vor dem Hintergrund der aktuellen relevanten Literatur diskutiert.

5.1 Methoden

5.1.1 Machbarkeit (*feasibility*)

Im ersten Schritt dieser Arbeit konnten zunächst die Methoden zur Sammlung von Ausatemluft und der anschließenden Analyse mittels eNose erfolgreich in den Ablauf der KIRA-Studie integriert werden.

Neerincx et al. formulierten in ihrem Review folgende Ansprüche an den „idealen Atemtest“ für den Einsatz bei Asthma im Kindesalter: er muss „kompakt, schnell, verlässlich und einfach in der klinischen Versorgung anzuwenden“ sein [155]. Die eNose-Technologie per se erfüllt bereits einige Punkte der Liste, da die eNose ein handliches, einfach zu bedienendes und benutzerfreundliches Gerät mit integrierter Analyseoption ist, welches vor allem im Vergleich zur GC-MS verhältnismäßig kostengünstig ist. Weitere Stärken, die besonders interessant für die Anwendung in der Pädiatrie sind, sind die Sicherheit und die Patientenfreundlichkeit durch die nicht-invasive Materialgewinnung, welche auch wiederholte Messungen erlauben.

In der Mehrzahl der bisher durchgeführten Studien zu eNose-Analysen mussten die Teilnehmenden komplexe Atemmanöver durchführen. Am geläufigsten war dabei das expiratorische Vitalkapazitätsmanöver, also die einmalige maximale forcierte Expiration nach maximaler Inspiration [134, 161]. Kinder unter fünf bis sechs Jahren sind jedoch aufgrund der erforderlichen Koordination der Atmung häufig noch nicht in der Lage, dieses Atemmanöver durchzuführen [155, 183]. Methoden, die hingegen nur wenig Kooperation benötigen, sind solche, bei denen die Sammlung in Ruheatmung stattfindet und zusätzlich meist eine Atemmaske anstatt eines Mundstücks zum Einsatz kommt [116, 174, 176, 177]. Eine Stärke dieser Arbeit ist, dass durch die Entscheidung zur Verwendung der Ruheatemmethode in der KIRA-Studie bereits Kindergartenkinder eingeschlossen werden konnten, und somit die Messung bei allen Studienteilnehmenden ab dem vollendeten dritten Lebensjahr durchgeführt wurde. Im Gegensatz zu vorherigen Studien mit Ruheatemmethoden, wurden in der KIRA-Studie in jedem Alter Mundstücke verwendet und die Nasenatmung mittels Nasenklemme verhindert. Der entscheidende Vorteil hierbei ist, dass eine Kontamination der Ausatemluft durch VOCs aus dem Nasenraum und Nasopharynx verhindert wurde. Kinder unter drei Jahren, die meist nicht in der Lage sind, koordiniert durch ein Mundstück zu atmen, konnten deshalb jedoch nicht untersucht werden.

Die größte Herausforderung stellte die Sicherstellung einer ausreichenden Dichtheit um das Mundstück herum dar, die besonders während der Inspiration relevant ist,

damit ausschließlich VOC-gefilterte Luft eingeatmet wird. Gerade bei jüngeren Kindern konnte nicht sicher ausgeschlossen werden, dass einige das Mundstück nicht ausreichend fest mit dem Mund umschlossen hielten und somit auch ungefilterte Raumluft inspirierten. Der potenzielle Störeffekt von VOCs aus der Umgebungsluft muss jedoch dringend berücksichtigt werden [155, 194]. Dieser Einfluss hätte durch die Verwendung einer Atemmaske gegebenenfalls reduziert werden können.

Um die Compliance und auch die Dichtheit zu fördern, durften die Kinder sich das Setup vor der Sammlung genau anschauen, ihnen wurde der Ablauf ausführlich erklärt und sie konnten zunächst das Atmen durch das Mundstück üben. Jüngere Kinder saßen bei der Materialgewinnung meist auf dem Schoß des begleitenden Elternteils, was die Compliance deutlich besserte. Denkbar wäre zudem gewesen, dass die Kinder während der Atmung ein Video anschauen, damit durch die Ablenkung ein ruhiger Atemfluss erzielt wird. Einige Autoren haben dies bereits beschrieben, allerdings bei der Sammlung von Ausatemluft über deutlich längere Zeitspannen [116, 170]. Da die Sammlung im Rahmen dieser Arbeit nur etwa 15-20 Atemzüge dauerte, wurde auf ein Video verzichtet. Die kurze Zeit der Sammlung ist wahrscheinlich auch der Grund, weshalb in dieser Studie kein Kind die Sammlung vorzeitig abbrechen musste. Allerdings zeigen auch Methoden mit einer Materialgewinnung über mehrere Minuten sehr gute Ergebnisse für die Machbarkeit [170].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Messung bei Kindern ab etwa sieben Jahren ohne Einschränkungen machbar war, wohingegen sich im Alter von drei bis sieben große individuelle Unterschiede bemerkbar machten, die jedoch eher auf die individuelle Bereitschaft des Kindes, als das konkrete Alter zurückzuführen waren. Die Erfahrungen, die im Rahmen der Studie gemacht wurden, zeigten trotzdem, dass die angewandte Methode der Sammlung von Ausatemluft für Kinder ab etwa drei Jahren geeignet ist, da letztendlich von allen Kinder ausreichend Ausatemluft gesammelt werden konnte.

5.1.2 Technische und methodische Herausforderungen

Obwohl aktiv an der Weiterentwicklung und Präzision der eNose-Technologie gearbeitet wird, befindet sich diese weiterhin in der explorativen Phase und viele technische und methodische Aspekte sind bisher ungeklärt. Das größte Problem stellt bisher die fehlende Standardisierung sowohl für die Sammlung von Ausatemluft, als auch für die Analyse dar, was deutliche Einschränkungen in der Vergleichbarkeit von Ergebnissen mit sich bringt. Inzwischen hat eine Task Force der ERS Empfehlungen für ein zukünftig einheitliches Vorgehen herausgebracht [194], die zum Zeitpunkt der

Durchführung dieser Arbeit jedoch noch nicht vorlagen. Unter der Vereinigung *Breathe Free* verfolgen Wissenschaftler verschiedener Arbeitsgruppen das Ziel, ein neues, standardisiertes Gerät zur Sammlung von Ausatemluft zu entwickeln, das im Anschluss für unterschiedliche Anwendungen geeignet sein soll [195].

5.1.2.1 Gewinnung von Ausatemluft

Wie bereits erwähnt, führte die Verwendung der Ruheatemmethode dazu, dass bereits Kinder unter sechs Jahren die Messung erfolgreich absolvieren konnten. Mehrere Studien, die den Einfluss des Prozedere der Materialgewinnung auf ausgeatmete VOC-Profile untersuchten, zeigten, dass das Atemmanöver, der Atemfluss und auch Luftanhalten *breathprints* relevant verändern können [139, 164, 196-198]. Da innerhalb der KIRA-Studie ein einheitliches Protokoll Verwendung fand, spielt der Einfluss des Manövers in der Auswertung eine untergeordnete Rolle, jedoch ist der Punkt beim Vergleich mit Studien, die ein anderes Vorgehen auswählten, relevant. Ein großer Vorteil in der Gewinnung von mehreren Atemzügen ist, dass ein gewisser Ausgleich zwischen verschieden starken Atemzügen einer Person während der Sammlung erfolgt [111]. Da es vielen Kindern schwerfiel, wirklich ruhig durch das Mundstück zu atmen, war die Atmung bei diesen Kindern forciert. Es gab jedoch auch Kinder, die sehr zurückhaltend atmeten und zwischendurch die Luft anhielten. Somit waren große Unterschiede in der Kraft der Ausatmung und damit verbunden im Atemfluss zu beobachten. Durch Anweisungen während der Sammlung wurde zwar versucht, eine möglichst ruhige und gleichmäßige Atmung zu erzielen, allerdings konnten damit Unterschiede nicht vollkommen verhindert werden, sodass ein relevanter Einfluss durch unterschiedliche Atemflüsse durchaus vorstellbar ist.

Neben der Gewinnung der gesamten Ausatemluft, wie sie hier erfolgte, wäre es auch möglich gewesen, ausschließlich alveoläre Luft zu untersuchen, mit dem Ziel, die Kontamination aus dem Oropharyngealraum und den Effekt durch die Durchmischung mit Totraumvolumen zu umgehen. Da bei der Gewinnung von alveolärer Luft ein Teil der Ausatemluft verworfen werden muss, wäre dies technisch deutlich anspruchsvoller gewesen [111, 199, 200]. Montuschi et al. konnten jedoch zeigen, dass die Analyse von alveolärer Luft (durch Verwerfung der ersten 150 ml) im Gegensatz zur Analyse der gesamten Ausatemluft zu einer verbesserten diagnostischen Leistung der eNose in der Diskrimination zwischen Asthmatikern und gesunden Kontrollen führte [158] und auch die ERS-Task-Force empfiehlt den Vergleich beider Methoden [194]. Möglicherweise könnte durch die Analyse der alveolären Luft anstatt der gesamten

Ausatemluft in Zukunft eine Verbesserung der Diskriminierungsfähigkeit der eNose erreicht werden.

Um die Auswirkung von VOCs aus der Umgebungsluft zu verkleinern, wurden die Messungen immer im selben Raum durchgeführt und es erfolgte die Inspiration durch einen VOC-Filter, der in den meisten Studien ebenfalls zum Einsatz kam [134, 143, 161, 170, 176]. Eine Alternative wäre das Einatmen von gereinigter Luft aus Gaszylindern gewesen [201], jedoch stellte der Filter die einfachere und günstigere Möglichkeit dar. Gerade bei kleineren Kindern konnte allerdings keine absolute Dichtigkeit um das Mundstück während der Inspiration gewährleistet werden. Zudem bleibt unklar, wie groß der Anteil der im Filter zurückgehaltenen VOCs wirklich war. Ein Nachteil der hier verwendeten Methode könnte außerdem die fehlende Auswaschphase vor der eigentlichen Materialgewinnung gewesen sein. Indem Versuchspersonen zunächst für wenige Minuten ruhig durch einen Filter atmeten, sollten in einigen Studien die VOCs aus der Umgebungsluft noch sicherer eliminiert werden [134, 154, 170]. Ebenfalls den Einfluss der Raumluft ausgleichen sollte in unserer Studie die Verwendung von VOC-gefilterter Raumluft als Baseline-Vergleich für die Analyse mittels eNose.

Ein weiterer Effekt, den es zu beachten galt, war die variierende Luftfeuchtigkeit der Ausatemluft [202]. Der Einsatz von Kieselgel-Filtern zur Trocknung der Luft, wie er hier verwendet wurde, war zuvor bereits mehrfach beschrieben worden [134, 135, 138], einige Autoren bezweifeln jedoch, dass sie die Feuchtigkeit überhaupt wirksam reduzieren können [203]. Zudem hat Kieselgel einen starken Eigengeruch und sondert somit VOCs ab, die wiederum zur Kontamination führen können. Dieser potenzielle Störeinfluss wurde berücksichtigt, indem das Setup zur Befüllung des Baseline-Beutels gleichermaßen einen Kieselgel-Filter beinhaltete. Darüber hinaus wurden die Daten der bekanntlich stark mit Wasser reagierenden Sensoren 5, 6, 23 und 31 [192] aus den Analysen ausgeschlossen, da sie trotz des Kieselgel-Filters die größte Varianz zeigten. Dieses Vorgehen war bereits beschrieben worden [139], birgt aber den großen Nachteil, dass relevante Informationen verloren gehen können, wenn VOCs, die eine Unterscheidung ermöglichen, ebenfalls mit den eliminierten Sensoren reagieren. Da der Einschluss aller 32 Sensoren allerdings auch nicht zu einer verbesserten

Diskrimination führte⁸, ist die mangelnde Unterscheidungsfähigkeit vermutlich nicht darauf zurückzuführen.

Beide Setups sind hauptsächlich aus Teflon gefertigt, ein Material, das aufgrund seiner chemischen Reaktionsträgheit häufig im Rahmen von VOC-Analysen Verwendung findet, damit VOC-Ablagerungen reduziert werden [204-208]. Trotz alledem kann auch die Verwendung von Teflon das Anhaften von VOCs an den Setups nicht vollständig verhindern [209]. Um an der Innenwand zurückbleibende VOCs zu entfernen und so eine Verunreinigung der gewonnenen Luft beim folgenden Kind zu vermeiden, wurden die Einzelteile nach der Messung streng nach den Angaben im Reinigungsprotokoll, das zudem die Hygienevorschriften der Klinik erfüllte, gesäubert. Obwohl das Desinfektionsmittel ausgiebig unter fließendem Wasser abgewaschen wurde und die Trocknung mittels Druckluft erfolgte, kann nicht vollkommen ausgeschlossen werden, dass dennoch Reste zurückblieben, die zu einer Kontamination führten.

Das Exhalat wurde in Tedlar®-Beuteln gesammelt, aus denen es innerhalb von maximal 30 min analysiert wurde. VOCs zeigen in der Langzeitbeobachtung in verschlossenen Behältern zeitabhängige Konzentrationsschwankungen [210], die wiederum vom verwendeten Material abhängig sind [211]. Durch die direkt anschließende Analyse sollte der Verlust von VOCs vermieden werden und Tedlar®-Beutel hatten bereits in vielen Studien zuvor Verwendung gefunden [154, 159, 160, 212]. Ein großer Nachteil der Tedlar®-Beutel ist, dass sie nachweislich Phenol und N,N-dimethylacetamide abgeben, die mit den eNose Sensoren reagieren und wofür bei der Analyse mittels eNose nicht adjustiert werden kann [194, 213]. Solange die Abgabe aus den Beuteln konstant erfolgte, dürften die aus den Beuteln stammenden VOCs keinen großen Einfluss auf die Unterscheidung von Gruppen gehabt haben. Da es aber auch möglich ist, dass es durch die wiederholte Verwendung der Beutel zur Abnutzung der Innenfläche kam und somit mit der Zeit vermehrt VOCs abgegeben wurden, kann ein potenzieller Störeinfluss nichts ausgeschlossen werden. Außerdem könnten durch die Mehrfachnutzung verbleibende VOCs ebenfalls zu einer relevanten Kontamination geführt haben, obwohl die Reinigung der Tedlar®-Beutel durch Spülung mit reinem Stickstoff als ausreichend effektiv in der Entfernung von VOCs beschrieben wurde [194, 210]. Um eine Vermischung von Proben verschiedener Kinder sicher auszuschließen, wäre alternativ der Einsatz von Einmalprodukten möglich gewesen.

⁸ Da die Analyse der 32 Sensoren zu vergleichbaren Ergebnissen führte, sind die Daten nicht dargestellt.

Studienvisiten fanden sowohl vormittags, als auch nachmittags statt, sodass es zudem möglich ist, dass auch die von einer Arbeitsgruppe gezeigte Abhängigkeit der VOC-Profile vom zirkadianen Rhythmus eine Bedeutung hatte [214]. Jedoch müsste ein Gerät, das in der allgemeinen Diagnostik von Asthma eingesetzt werden soll, tageszeitabhängige Schwankungen tolerieren. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob dieser Effekt, der bisher ausschließlich innerhalb einer Gruppe von gesunden Erwachsenen beschrieben wurde, stark genug ist, die Diskriminationsfähigkeit einer eNose zwischen z. B. Asthmatikern und gesunden Kontrollen zu beeinflussen.

5.1.2.2 Technische Aspekte

In dieser Arbeit wurde die Cyranose® 320 verwendet, die bereits häufig in der Untersuchung diverser medizinischer Fragestellungen inklusive der möglichen Asthmad Diagnose erfolgreich eingesetzt wurde [134, 138, 157, 215, 216]. In mehreren Versuchen zeigte die parallele Verwendung zweier Cyranose®-Geräte zwar nicht identische, aber gut reproduzierbare Ergebnisse [135, 176, 203]. Da für diese Arbeit nur eine eNose verwendet wurde, konnte die Frage nach der Vergleichbarkeit der Daten verschiedener Geräte jedoch vernachlässigt werden. Neben der Cyranose® 320 existieren noch viele weitere eNose Modelle diverser Hersteller, die Sensoren aus unterschiedlichem Material und mit verschiedenen Eigenschaften haben, wodurch die Vergleichbarkeit von eNose-Studien insgesamt eingeschränkt wird [164, 170, 200].

Bos et al. beschrieben bei einer etwa einjährigen Studienlaufzeit für die Cyranose® 320 eine Sensordrift mit der Zeit [217]. In dieser Arbeit konnte allerdings keine signifikante Korrelation zwischen den Sensorsignalen und dem Datum der Messung nachgewiesen werden, sodass eine größere Sensordrift unwahrscheinlich erscheint.

Ein weiterer technischer Aspekt, den es zu bedenken galt, war der mögliche Einfluss von Temperaturinstabilitäten auf die Sensoren [218]. Das Gerät ermöglicht die Einstellung einer Betriebstemperatur, die für alle Messungen bei 42 °C lag. Um eine potenzielle Wärmeabgabe des Akkus der eNose zu vermeiden, wurde dieser entfernt und das Gerät über das Stromkabel angeschlossen. Ob allerdings die Länge der Betriebszeit vor der Messung trotz alledem einen Einfluss auf die gemessenen VOC-Profile hatte, wurde nicht untersucht.

Soweit bekannt, existieren für die Cyranose® bislang keine gängigen Qualitätskontrollen, die eine regelmäßige Überprüfung der Funktionsfähigkeit ermöglichen. Durch die Beurteilung der Kurve der Echtzeitreaktion der Sensoren

konnten zumindest deutliche Abweichungen von der typischen Form erkannt werden. Ein undichtes Gerät erreicht z. B. während des Sampling-Zyklus kein Plateau mehr. Zusätzlich zum optischen Feedback während der Messung wurde das Gerät vor Beginn der Durchführung dieser Studie durch den Hersteller gewartet und nach der Hälfte der Laufzeit eine Dichtigkeitsprüfung durchgeführt. Aus diesen Gründen kann weitgehend davon ausgegangen werden, dass das Gerät keinen technischen Defekt aufwies.

Da diese Arbeit eine Querschnittsstudie darstellte und somit jedes Kind nur einmalig untersucht wurde, kann keine Aussage zur intraindividuellen Reproduzierbarkeit der *breathprints* und der Reproduzierbarkeit der Klassifikationen anhand der VOC-Profile getroffen werden. Bisherige Studien zeigten diesbezüglich jedoch, mit nur wenigen Ausnahmen [219], akzeptable Ergebnisse [135, 154, 202, 219-221].

5.1.2.3 Potenzielle individuelle Störfaktoren

Allenfalls ein kleiner Anteil der VOCs, die in der Ausatemluft identifiziert werden können, lassen Hinweise auf spezifische Erkrankungen zu, da individuelle *breathprints* durch viele weitere Faktoren beeinflusst werden. Einflüsse, von denen bekannt ist, dass sie VOC-Profile verändern können, sind u. a. Alter und Geschlecht [222], Ernährung [223], Rauchen [224], Sport [225], Medikamente [154, 156], Komorbiditäten [226] und der Menstruationszyklus [227].

Inwiefern Alter und Geschlecht relevante Störvariablen darstellen, wird aktuell kontrovers diskutiert. Obwohl diese von einigen Autoren als wesentliche Einflussfaktoren auf exhalierte VOC-Profile beschrieben wurden [119, 127, 222], zeigten Dragonieri et al. 2007, dass eine elektronische Nase nicht zwischen jeweils zehn jüngeren und zehn älteren gesunden Kontrollen diskriminieren konnte [134] und auch einige Jahre konnten die *breathprints* gesunder Erwachsener nicht bezüglich des Alters oder des Geschlechts unterschieden werden [228]. Alle genannten Studien wurden jedoch mit Erwachsenen durchgeführt, sodass eine Übertragbarkeit in das Kindesalter nur unter Vorbehalt möglich ist. Bei Kindern korreliert das Alter stark mit vielen weiteren Faktoren, wie z. B. dem Gewicht, welche möglicherweise exhalierte VOC-Profile beeinflussen können. Unsere Ergebnisse zeigten eine sehr hohe Korrelation der Sensor-Rohdaten mit dem Alter, sodass für die weiteren Analysen altersadjustierte Daten verwendet wurden. Allerdings wurden die Analysen in Voruntersuchungen zusätzlich auch ohne Altersadjustierung durchgeführt, wobei die Ergebnisse mit den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnissen mit Altersadjustierung

vergleichbar waren. Eine mögliche Erklärung wäre, dass in Übereinstimmung mit Dragonieri et al. die Unterscheidungsfähigkeit der eNose durch das Alter nicht beeinträchtigt wird. Ebenso wiesen die wenigen diskriminierenden Hauptkomponenten, mit einer Ausnahme, keine signifikanten Differenzen zwischen den Geschlechtern auf und es bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Geschlechterverteilung zwischen den jeweils untersuchten Gruppen. Trotz alledem bleibt eine Beeinflussung der *breathprints* durch das Geschlecht nicht auszuschließen.

Zum genauen Einfluss von Essen und Trinken vor der Messung auf die Diskriminationsfähigkeit der eNose fehlen Studien [112], jedoch hat die Ernährung grundsätzlich Einfluss auf die ausgeatmeten VOC-Profile [223, 229]. Es ist davon auszugehen, dass direkt nach dem Essen oder Trinken auch VOCs in der Ausatemluft zu finden sind, die direkt aus der Mahlzeit oder dem Getränk stammen. Die Uhrzeiten der letzten Mahlzeit und des letzten Getränks wurden in der KIRA-Studie zwar dokumentiert, jedoch war es aufgrund der stark variierenden Nahrungsmittel und Zeiten nicht möglich den potenziellen Effekt in der Auswertung zu berücksichtigen.

Auch Rauchen scheint einen wesentlichen Störfaktor darzustellen [222, 224]. Da in unserer Studie nur ein einziges Kind angab, aktiv zu rauchen, war der mögliche Einfluss von Aktivrauchen vermutlich für die Analyse irrelevant. Jedoch stellte sich die Frage, ob auch Passivrauchen exhalierte VOC-Profile signifikant verändert. Kinder aus Raucherhaushalten konnten anhand ihrer *breathprints* zumindest mit einer moderaten Treffsicherheit von Kindern aus Nichtraucherhaushalten unterschieden werden. Soweit bekannt, gibt es zu dieser Fragestellung bisher keine Publikation. Bei der Untersuchung des Einflusses von Aktivrauchen auf exhalierte VOC-Profile war eine elektronische Nase jedoch in der Lage, fast vollständig zwischen aktiven Rauchern und Nichtrauchern zu unterscheiden [212]. Rauchen kann zur Aktivierung von Signalwegen, die Atemwegsentzündungen begünstigen, und durch vermehrte freie Radikale zu erhöhtem oxidativen Stress im Körper führen [230, 231]. VOCs, die bei Rauchern signifikant verändert sind, können somit entweder direkte Stoffe aus dem Zigarettenrauch selbst oder endogene Metaboliten sein [232]. Eine Übertragung der Ergebnisse von aktiven Rauchern auf Kinder aus Raucherhaushalten ist zwar nur bedingt möglich, doch auch Passivrauchen führt zu verstärktem oxidativem Stress und erhöht das Risiko für chronische Atemwegsentzündungen [233]. Demnach ist es durchaus denkbar, dass in der Ausatemluft von Kindern, die zuhause Zigarettenrauch ausgesetzt sind, veränderte VOCs zu finden sind, die mittels eNose oder GC-MS gemessen werden können. Allerdings zeigte die Hauptkomponente, die zur

Diskrimination zwischen Kindern aus Raucherhaushalten und Kindern aus Nichtraucherhaushalten führte, ebenso signifikante Unterschiede zwischen Mädchen und Jungen. Obwohl die Geschlechterverteilung innerhalb der beiden Gruppen relativ ausgeglichen war, kann also nicht ausgeschlossen werden, dass die mäßige Diskriminationsfähigkeit zwischen Kindern aus Raucherhaushalten und solchen aus Nichtraucherhaushalten in dieser Arbeit auf andere Ursachen als das Passivrauchen zurückzuführen ist.

Mittels eNose gemessene Unterschiede zwischen Patienten mit bestimmten Krankheiten und gesunden Kontrollen, könnten auch darauf zurück zu führen sein, dass kranke Patienten spezifische medikamentöse Therapien erhalten und somit Reststoffe oder Metaboliten der Medikamente ausschließlich im Exhalat von Erkrankten zu finden sind. Einige Studien lassen jedoch vermuten, dass zumindest die dort beobachtete Diskriminationsfähigkeit aufgrund von VOC-Profilen bei Asthma und COPD nicht ausschließlich von der medikamentösen Therapie abhängt [135, 154, 176], jedoch werden weitere Studien benötigt, bevor eine klare Aussage dazu getroffen werden kann. Eltern und Kinder wurden in der KIRA-Studie dazu angehalten, am Tag der Messung auf die Medikamenteneinnahme zu verzichten, sodass zumindest keine direkt nach Inhalation zurückbleibenden Reststoffe im Exhalat zu erwarten waren, doch kann ein grundsätzlicher Einfluss durch unterschiedliche medikamentöse Behandlungspläne auf die *breathprints* trotzdem nicht ausgeschlossen werden.

Durch den strengen Studienausschluss von Kindern mit Komorbiditäten spielten weitere Erkrankungen als Störvariable für diese Arbeit keine Rolle [202, 226]. In weniger selektierten Patientenkollektiven müssten sie jedoch berücksichtigt werden.

Eine Möglichkeit, kurzfristige Störeinflüsse zu minimieren, wäre z. B., Teilnehmende dazu anzuweisen, in den ein bis drei Stunden vor der Messung weder Nahrung noch Getränke mit Ausnahme von Wasser zu sich zu nehmen und auf körperliche Aktivität zu verzichten – ein Vorgehen, das viele Studien beschreiben [134, 161, 170, 174, 175]. Ob die Diskriminationsfähigkeit einer eNose dadurch relevant verbessert wird, muss jedoch erst noch ermittelt werden [194]. Andere Faktoren, wie z. B. Komorbiditäten, können zudem nicht beeinflusst werden oder die Eliminierung wäre mit starken Einschränkungen verbunden bzw. ethisch nicht vertretbar [155]. Bei der Erstellung des hier verwendeten Studienprotokolls wurde eine bewusste Entscheidung gegen die oben genannten Vorgaben getroffen, da das Gerät möglichst in einem Umfeld getestet werden sollte, das dem ähnlich ist, in dem langfristig ein Einsatz gewünscht ist, und zu

viele Einschränkungen vor der Analyse die klinische Anwendung, gerade in der Pädiatrie, ungeeignet machen würden.

5.1.2.4 Datenanalyse

Nicht nur die Sammlung von Ausatemluft und die Analysetechniken unterscheiden sich zwischen den bereits publizierten Studien, sondern auch bei der statistischen Auswertung kommen immer wieder unterschiedlichste Methoden zum Einsatz. Dabei stellt die in dieser Arbeit verwendete Kombination aus der Durchführung einer Hauptkomponentenanalyse mit anschließender linearer Diskriminanzanalyse das am häufigsten verwendete Vorgehen dar [234].

Die meisten Autoren, die Empfehlungen zur statistischen Analyse von eNose-Sensorsignalen aussprechen, raten zunächst zur Durchführung einer Normalisierung⁹ der Sensorsignale [194, 235, 236], jedoch zeigte sich in Voruntersuchungen, dass dies keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse hatte, sodass ausschließlich die altersadjustierten Rohdaten verwendet wurden.

Das eigentliche Ziel einer Hauptkomponentenanalyse ist die Reduktion vieler Variablen auf wenige Komponenten, die den Großteil der beobachteten Varianz beinhalten [237]. Wie viele Komponenten in die weitere Analyse eingehen, variiert jedoch [188]. In vielen Veröffentlichungen zur Analyse von Ausatemluft mittels eNose finden sich keine Informationen zur Anzahl der analysierten Komponenten, nur wenige Autoren beschreiben eigens festgelegte, aber jeweils unterschiedliche Kriterien [154, 161, 176]. Ein gängiges statistisches Verfahren zur Ermittlung der relevanten Hauptkomponenten ist z. B. die Anwendung des Kaiser-Guttman-Kriteriums, welches besagt, dass ausschließlich solche Komponenten Verwendung finden sollen, deren Eigenwerte¹⁰ größer als 1 sind. Eine Alternative ist die optische Orientierung am „Knick“ in der graphischen Darstellung der Eigenwerte [237]. Beide Vorgehensweisen hätten bei allen Gruppenvergleichen dazu geführt, dass ausschließlich die erste Hauptkomponente weiter analysiert worden wäre. Diese wies in keinem der in dieser

⁹ Durch Normalisierung wird die Signalintensität der Sensorendaten angeglichen, um systematische Abweichungen z. B. durch unterschiedliche Probevolumina auszugleichen [194].

¹⁰ Der Eigenwert einer Hauptkomponente ist die Summe der quadrierten Korrelationen zwischen ursprünglicher Variable und Hauptkomponente. Ein Eigenwert unter 1 besagt, dass die Hauptkomponente weniger Varianz des ursprünglichen Datensatzes bindet als eine ursprüngliche Variable. [237] In dieser Arbeit bedeutet das konkret, dass eine Hauptkomponente mit einem Eigenwert unter 1 einen geringeren Anteil an der Gesamtvarianz beschreibt als ein ursprünglicher Sensor.

Arbeit verwendeten Gruppenvergleiche relevante Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen auf. Ausatemluft enthält jedoch mehrere Hundert verschiedene VOCs, während GC-MS Studien nur sechs bis 28 VOCs identifizierten, die zwischen Asthma und gesunden Kontrollen diskriminieren konnten. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass der Großteil der mit den Sensoren reagierenden VOCs nicht zur gewünschten Unterscheidung beiträgt, sondern zu Hintergrundrauschen mit hoher Streuung führt, welches durch die erste Hauptkomponente repräsentiert wird. Dieser Umstand könnte auch den äußerst hohen Eigenwert der ersten Hauptkomponente und den hohen Anteil an der Gesamtvarianz erklären und würde einer geringen *signal-to-noise-ratio* (Quotient aus relevantem Signal und Hintergrundrauschen) entsprechen, die als charakteristisch für eNose Daten beschrieben wurde [238]. Aus diesem Grund wurden auch Hauptkomponenten mit einem Eigenwert < 1 berücksichtigt. Das Kriterium, das zur Analyse der ersten fünf Hauptkomponenten führte, die je nach Fragestellung einen Anteil an der Gesamtvarianz von 99,4–99,7 % aufwiesen, wurde letztendlich weitgehend willkürlich gewählt. Es entsprach jedoch in etwa der Auswertung von van der Schee et al. und damit der einzigen zu dem Zeitpunkt veröffentlichten Studie zur Anwendung der Cyranose® 320 im Kindesalter [176].

Durch Leave-One-Out-Kreuzvalidierung wurde die interne Validität der Diskriminanzfunktion untersucht, die meist mangelhafte Ergebnisse bezüglich der Anzahl der korrekten Zuordnungen zeigte. Gerade bei besserer Unterscheidungsfähigkeit der eNose, wie sie in den allen bisherigen Publikationen zur eNose-Technologie in der Asthmaforschung beschrieben wurde, wäre die externe Validierung durch einen zweiten Probedatensatz essentiell gewesen. Eine Aufteilung in einen Trainingsdatensatz und einen zweiten Datensatz zur Validierung war in dieser Arbeit insbesondere aufgrund der geringen Anzahl an gesunden Kontrollen nicht möglich.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Diagnosestellung Asthma bzw. *wheeze*

Die Ergebnisse bezüglich der Unterscheidung zwischen Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen anhand der *breathprints* in dieser Arbeit waren widersprüchlich und konnten zusammenfassend die Ergebnisse bisheriger Studien nicht bekräftigen. Wurden alle vorliegenden Sensorrohdaten der eNose gemeinsam analysiert war es möglich, zwischen Fällen und gesunden Kontrollen zu unterscheiden, allerdings mit einer schlechten Trennschärfe. Im Gegensatz dazu war diese Diskrimination zwischen Fällen und gesunden Kontrollen nicht mehr möglich, wenn zwei bezüglich des Alters und des Geschlechts homogene Gruppen mit jeweils nur zwölf Kindern miteinander verglichen wurden. Ebenso konnte anhand der Sensordaten der elektronischen Nase keine Zuordnung zu der Gruppe der Asthmatiker einerseits und der Gruppe der gesunden Kontrollen andererseits vorgenommen werden. Die fehlende Unterscheidungsfähigkeit war unabhängig davon, ob die Gruppe der Asthmatiker aus allen 38 Kindern mit Einschlussdiagnose *Asthma* bestand oder drei Kinder mit Einschlussdiagnose *wheeze* zusätzlich der Gruppe hinzugefügt wurden¹¹. Auch wenn ausschließlich Kinder analysiert wurden, die zu dem Zeitpunkt eine Dauertherapie mit inhalativen Corticosteroiden erhielten oder lediglich Kinder mit Therapiestufe 1 und somit mildem Asthma betrachtet wurden, war eine Unterscheidung anhand der *breathprints* nicht möglich. Außerdem war auch die Differenzierung zwischen Kindern mit *wheeze* und gesunden Kontrollen nicht realisierbar. Zusammenfassend war also die elektronische Nase in dieser Studie demnach nicht in der Lage, zwischen Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen zu unterscheiden.

Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu allen bisher veröffentlichten Studien, die sich mit dem Einsatz von *breathomics* im Zusammenhang mit der korrekten Diagnosestellung von Asthma oder *preschool wheeze* befasst haben und aufgrund derer zumindest eine moderate Unterscheidungsfähigkeit anhand der ausgeatmeten VOC-Profile zu erwarten gewesen wäre. In den meisten vorangegangenen Studien jedoch wurden entweder Erwachsene untersucht oder VOCs mittels GC-MS gemessen. Da unsere Studie dementsprechend eine der ersten ist, die sich mit der

¹¹ Die Kinder waren initial mit Einschlussdiagnose *wheeze* in die Studie aufgenommen worden, hatten zum Zeitpunkt der Datenerhebung aber potenziell eine Asthmadiagnose erhalten (Details siehe Kapitel 4.1).

Analyse von VOCs in der Ausatemluft mittels eNose bei Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen auseinandergesetzt hat, ist die Anzahl vergleichbarer Studien stark limitiert.

Eine erst kürzlich veröffentlichte Studie, die Ergebnisse zum Einsatz einer elektronischen Nase bei 20 Kindern ab sechs Jahren mit moderatem bis schwerem Asthma und 22 altersentsprechenden gesunden Kontrollen beschrieb, konnte eine moderate Unterscheidungsfähigkeit mit hoher Spezifität nachweisen [170]. Vergleichbare Ergebnisse zeigte auch eine weitere Studie, die anstatt ausgeatmeter Luft nur das Kondensat von Ausatemluft von 45 Kindern mit Asthma und 19 gesunden Kontrollen mittels Cyranose® untersuchte [169]. Darüber hinaus erreichte die diagnostische Treffsicherheit für Asthma ähnliche oder höhere Werte in der Anwendung verschiedener elektronischer Nasen bei Erwachsenen [134, 156-158, 164]. Untersuchungen der Ausatemluft mittels GC-MS in pädiatrischen Kohorten mit 23 bis 120 Kindern zeigten eine bessere Diskriminationsfähigkeit als entsprechende eNose Studien [171-175].

Auch Unterschiede in den *breathprints* von Kindern mit *preschool wheeze* und gleichaltrigen gesunden Kindern wurden bereits beschrieben. Sowohl die VOC-Profile von Kindern mit zu dem Zeitpunkt symptomatischem *wheeze*, analysiert mittels eNose, als auch die von Kindern mit wiederkehrendem *wheeze*, ermittelt durch GC-MS, unterschieden sich signifikant von den jeweils untersuchten gesunden Kontrollen im Kleinkind- und Vorschulalter [116, 176]. Die jeweilige Anzahl der korrekten Zuordnungen wies auf eine moderate bis gute Diskriminationsfähigkeit hin.

In dieser Arbeit war anhand der gemessenen VOC-Profile ausschließlich eine Unterscheidung zwischen allen Fällen und gesunden Kontrollen möglich. Bedenkt man, dass nicht alle Kinder mit *wheeze* später eine Progression zum Asthma erleben und distinkte zugrundeliegende Pathomechanismen für den unterschiedlichen Verlauf verantwortlich gemacht werden, muss man sich fragen, inwiefern die gemeinsame Untersuchung von *wheeze* und Asthma im Vergleich zu gesunden Kontrollen überhaupt sinnvoll ist. Allerdings führen alle Formen der obstruktiven Atemwegserkrankungen zu einer Entzündung der Atemwege. Histopathologische Auffälligkeiten, wie die Verdickung der Basalmembran oder eosinophile Infiltrationen, welche als charakteristisch für Asthma gelten, können unabhängig vom Atopiestatus bereits im Vorschulalter nachgewiesen werden [239]. Zudem ähnelten die mittels GC-MS ermittelten VOCs für Kinder mit *preschool wheeze* denen, die vorwiegend bei Asthmatikern gefunden wurden [166, 171, 176]. Demzufolge ist es durchaus

vorstellbar, dass aufgrund der ähnlichen *breathprints* von Kindern mit *preschool wheeze* und Kindern mit Asthma eine gemeinsame Abgrenzung zu gesunden Kontrollen, die noch nie eine *wheeze*-Episode erlitten haben, mittels eNose möglich ist. Die elektronische Nase ist aufgrund ihrer kreuzreaktiven Sensoren nicht in der Lage, einzelne spezifische VOCs zu identifizieren. Dementsprechend konnte nicht ermittelt werden, welche Moleküle zu der in dieser Arbeit beobachteten Diskrimination zwischen allen Fällen und den gesunden Kontrollen führten. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass diese Unterscheidungsfähigkeit bei der Untersuchung von kleineren, aber präziser definierten Untergruppen nicht bestätigt werden konnte, ist es fraglich, ob wirklich krankheitsspezifische VOCs und nicht unbekannte Störeinflüsse für die Unterscheidung verantwortlich waren. Zudem muss berücksichtigt werden, dass die äußerst ungleichen Gruppenstärken von Fällen einerseits und gesunden Kontrollen andererseits eine Limitation für die Interpretation darstellen.

Einige Autoren, die systematisch bisherige *breathomics*-Studien analysiert und diskutiert haben, warnen vor einer zu optimistischen Beurteilung der erzielten Ergebnisse aufgrund der meist fehlenden externen Validierung und der verhältnismäßig kleinen Gruppengrößen [236, 240-242]. Allerdings konnte unsere Studie die bisher publizierten Ergebnisse zur Unterscheidungsfähigkeit grundlegend nicht bestätigen, sodass sich die Frage stellt, wie das zu erklären ist.

Eine mögliche Erklärung wäre, dass keine signifikanten, krankheitsspezifischen Unterschiede der ausgeatmeten VOCs zwischen kranken und gesunden Kindern vorhanden waren. Beim Vergleich der Ergebnisse verschiedener Studien, die alle mittels GC-MS VOCs ermittelten, die eine Unterscheidung zwischen Kindern mit Asthma und gesunden Kontrollen ermöglichten, fällt auf, dass es kaum Überlappungen zwischen den spezifischen VOCs gibt [171-175]. Insgesamt wurden nur 13 der beschriebenen VOCs mehr als einmal genannt, wobei unklar ist, ob dies auf tatsächlich vorhandene Unterschiede oder auf die unterschiedliche Analysetechnik zurückzuführen ist [155]. Die Tatsachen, dass sich die bisher ermittelten VOCs jedoch meist zumindest in ihrer Grundstruktur ähneln und dass auch GC-MS-Messungen nicht uneingeschränkt untereinander vergleichbar und vollständig standardisiert sind, lassen jedoch vermuten, dass die Analysetechnik einen großen Einfluss auf die beobachteten Unterschiede der spezifischen VOCs zwischen den genannten Studien hatte. Eine mögliche Ursache für tatsächlich nicht vorhandene oder nicht ausreichend messbare Unterschiede zwischen Asthmatikern und Kontrollen in dieser Studie könnte sein, dass die Asthmatiker in der KIRA-Studie eine relativ heterogene Gruppe ergaben. Viele der Kinder litten nur an

milder Symptomatik ohne Bedarf einer ICS-Dauertherapie und die Symptome von 70% der Asthmatiker galten nach GINA-Kriterien als ausreichend kontrolliert. Auch wurde die Diagnose „Asthma“ zwar nach Leitlinien definiert und musste zuvor ärztlich diagnostiziert worden sein, jedoch zeigen Untersuchungen, dass auch zwischen Pädiatern variiert, was als Asthma bezeichnet wird [243]. Ebenso gibt es Unterschiede in der Wahrnehmung von *wheeze* und die meisten Kinder mit *preschool wheeze* waren zum Zeitpunkt der Messung nicht akut symptomatisch, einige hatten sogar bereits im gesamten letzten Jahr keine *wheeze*-Episode mehr durchlebt. Trotz alledem machen es die konstanten Ergebnisse aller anderen Studien äußerst unwahrscheinlich, dass in der hier untersuchten Kohorte grundsätzlich keine Unterschiede in den VOC-Profilen vorlagen. Obwohl andere Studien mit vergleichbarer Anzahl an Teilnehmenden aussagekräftige Ergebnisse erhielten [134, 138], scheint es möglich, dass die Gruppengrößen in dieser Studie nicht ausreichten, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen.

Eine weitere denkbare Erklärung für die fehlende Diskriminierung zwischen Kindern mit Asthma bzw. *wheeze* könnte sein, dass trotz grundsätzlich bestehender Unterschiede die Analyse der Sensordaten der elektronischen Nase nicht in der Lage war, diese korrekt zu identifizieren. Insbesondere aufgrund der kreuzreaktiven Sensoren ist es vorstellbar, dass diverse nicht krankheitsrelevante VOCs zu massivem Hintergrundrauschen führten und somit die entscheidenden Signale überlagert wurden. Im Grunde können alle unter 5.1.2 bereits ausführlich erläuterten und diskutierten technischen und methodischen Kriterien Einfluss auf die *breathprints* und somit auf die Diskriminationsfähigkeit gehabt haben. Besonders hervorzuheben wären in diesem Falle die potenziellen Einflüsse der Umgebungsluft und der vermeidbaren individuellen Störfaktoren, da diesbezüglich am ehesten Abweichungen zu vorangegangenen Studien festgestellt werden können. Unsere Ergebnisse deuten möglicherweise darauf hin, dass die eher kurze Sammlungszeit, die fehlende Auswasch-Periode vor der Materialgewinnung [244] und die eventuell unzureichende Dichtigkeit um das Mundstück insbesondere bei jüngeren Kindern dazu geführt haben könnten, dass direkt zuvor aufgenommene exogene VOCs in der Ausatemluft dominierten und den Effekt der Asthma- bzw. *wheeze*-spezifischen endogenen VOCs überdeckten. In Studien, in der die GC-MS zum Einsatz kommt, scheint die fehlende Auswaschzeit keine relevanten Auswirkungen zu haben, da einerseits eine Korrektur anhand der parallelen Sammlung von Umgebungsluft möglich ist und andererseits durch ihren qualitativen Charakter die Messung weniger anfällig für Informationsverlust zu sein scheint [116, 171, 172, 179]. In unserem Studiendesign war die einzige Vorgabe

bezüglich des Ausschlusses individueller Störfaktoren, dass am Studientag auf inhalative Medikamente verzichtet werden sollte. Somit kann auch das unterschiedliche Verhalten bezüglich Essen, Trinken und körperlicher Bewegung vor der Messung zu übermäßigen Störeinflüssen und zur Überlagerung der untersuchten Signale geführt haben. Die gesunden Kontrollen waren zudem signifikant jünger als die Gruppe der Asthmatiker und signifikant älter als die Kinder mit *preschool wheeze*, sodass auch der Einfluss eines möglichen Alterseffekts trotz Altersadjustierung berücksichtigt werden muss. Zuletzt ist es auch denkbar, dass es durch die Wiederverwendung der Tedlar®-Beutel zur Kontamination und Vermischung der Ausatemluft von Kindern verschiedener Gruppen kam, die anschließend eine Diskrimination verhinderten. Stickstoffspülungen wurden zwar als ausreichend wirksam beschrieben, jedoch unterscheiden sich die beschriebenen Reinigungsprotokolle [172, 179, 210].

Es lässt sich also nicht abschließend klären, weshalb *breathprints* in dieser Arbeit keine stabilen Modelle zur Unterscheidung zwischen Asthma bzw. *wheeze* und gesunden Kontrollen ergaben. Seit einigen Jahren werden Hoffnungen darauf gesetzt, dass langfristig mit der Unterstützung von VOC-Messungen die Asthma-Diagnosestellung verbessert und bereits in den ersten sechs Lebensjahren zwischen echtem frühkindlichen Asthma und selbstlimitierendem *wheeze* unterschieden werden kann. Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen aber darauf hin, dass eine Reproduktion der bisher veröffentlichten Ergebnisse in neuen Kohorten nicht selbstverständlich ist und somit die eNose Technologie aktuell noch nicht bereit für den klinischen Einsatz ist. Streng standardisierte Methoden und Untersuchungen in großen Kohorten sind nötig, um zu zeigen, ob aus VOC-Analysen mehr als „Forschungsspielzeuge“ [242] werden wird.

5.2.2 *Episodic viral wheeze versus multi-trigger wheeze*

Innerhalb der Gruppe der Kinder mit Einschlussdiagnose *wheeze* war in dieser Arbeit eine Diskrimination von *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* mit moderater Trennschärfe und mäßiger korrekter Klassifikation anhand der ausgeatmeten VOC-Profile möglich. Wurden ausschließlich Kinder unter sechs Jahren in die Analyse eingeschlossen, konnten die Trennschärfe und der Anteil der korrekten Zuordnung noch weiter verbessert werden. Bei der Interpretation dieser Resultate sollten jedoch einige Fakten berücksichtigt werden. Zum einen waren allgemeinere Unterscheidungen (siehe 5.2.1) zuvor nicht möglich gewesen, obwohl für diese Fragestellungen *proof of*

*principle*¹² bereits gezeigt werden konnte. Da unklar bleibt, weshalb in dieser Studie eine Unterscheidung zwischen Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen nicht möglich war, sollte die Ergebnisse weiterer Analysen mit Subgruppen aus demselben Datensatz kritisch interpretiert werden. Außerdem waren signifikante Unterschiede ausschließlich in der vierten bzw. fünften Hauptkomponente nachweisbar, die bereits nur jeweils etwa 0,2% der Gesamtvarianz beschrieben. Insofern ist es fraglich, wie stabil die erstellten Modelle waren und ob die messbare Diskriminierung wirklich auf Phänotypen-spezifische VOCs und nicht auf statistische Artefakte zurückzuführen war. Zuletzt muss berücksichtigt werden, dass die Fallzahlen gering waren und gerade bei der gemeinsamen Analyse vieler Variablen inadäquate Gruppengrößen eher zur Entdeckung von nur scheinbaren Unterschieden, also ebenfalls nur statistischen Artefakten, führen können [240]. Trotz alledem blieb die Klassifikation nach dem Ausschluss der sieben Kinder, die zum Zeitpunkt der Messung bereits sechs Jahre oder älter waren, relativ stabil. Die Gruppen waren weitgehend ausgeglichen bezüglich der meisten demographischen und krankheitsbezogenen Daten (einzige Ausnahme war der ungleiche Anteil von Kindern mit ICS-Dauertherapie) und es gibt keinen Grund zur Annahme, dass Unterschiede der Gruppen in Hinsicht auf Ernährung, eingeatmeter Raumluft oder der Durchführung der Materialsammlung zu erwarten gewesen wären. Dementsprechend erscheint es zumindest unwahrscheinlich, dass diese genannten Faktoren die Unterschiede in den *breathprints* der beiden Gruppen erklären.

Der Vorschlag der Einteilung in die Phänotypen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* 2008 durch eine Expertengruppe der ERS wurde in den folgenden Jahren schnell angenommen [245, 246]. Gerade in der klinischen Versorgung spielt sie bis heute eine große Rolle, da sie keinen längeren zeitlichen Verlauf berücksichtigt und somit Pädiaterinnen und Pädiater bereits frühzeitig bei ärztlicher Beratung eines Kindes mit *wheeze* eine entsprechende Klassifikation vornehmen können. Verschiedene Autoren unterstützen das Konzept dieser Phänotypen, indem sie Hypothesen für Unterschiede in der Pathogenese beschreiben. Für die Entstehung von *viral wheeze* werden eine gestörte Reifung der angeborenen Immunabwehr gegenüber Viren und eine dadurch entstehende erhöhte Anfälligkeit für virale Infektionen der unteren Atemwege verantwortlich gemacht. Daraus resultieren rezidivierende Entzündungen, die wiederum die Entwicklung und Reifung der Lunge und Atemwege

¹² *Proof of principle* beschreibt den Nachweis der grundsätzlichen Machbarkeit einer Methode.

behindern. [8, 247-249] Insbesondere bei Kindern, die ausschließlich in den ersten Lebensjahren an *wheeze* leiden, könnten auch verhältnismäßig enge Atemwege zu einer vorübergehenden Prädisposition für pfeifende Atmung führen, die sich jedoch durch Zunahme des Atemwegsdurchmessers wieder verwächst [1]. Zudem wurden Hinweise auf eine von Allergien unabhängige, bereits in utero beginnende Pathogenese gefunden [250]. In der Entstehung von *multi-trigger wheeze* hingegen scheinen genetische Prädispositionen und eine frühe Sensibilisierung gegenüber Allergenen eine bedeutendere Rolle zu spielen [251]. *Wheeze*, das nur durch virale Infekte ausgelöst wird, wird eine meist gute Prognose mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine Remission nachgesagt [8, 30, 70]. Im Gegensatz dazu gilt *multi-trigger wheeze* als wichtiger Risikofaktor für anhaltendes *wheeze* und späteres Asthma und ist mit stärkeren Einschränkungen der Lungenfunktion assoziiert [68, 252, 253]. Inwiefern *multi-trigger wheeze* zu veränderten VOC-Profilen in der Ausatemluft führen kann, ist bisher nicht untersucht worden. Eine denkbare Erklärung für die gemessenen Unterschiede in dieser Arbeit könnte jedoch sein, dass Kinder mit *multi-trigger wheeze* im Gegensatz zu Kindern mit *episodic viral wheeze* eine kontinuierliche Inflammation der Atemwege selbst in asymptomatischen Phasen aufweisen, welche auch zwischen umschriebenen Episoden zu *wheeze*-Anfällen führen kann [254]. Diese Theorie wird unterstützt durch eine Studie, in der histologische Merkmale der Bronchien bei vielen Kindern mit *preschool wheeze* Asthma-typische Auffälligkeiten unabhängig vom Atopiestatus, bei reinem viralen *wheeze* jedoch keine Unterschiede zu gesunden Kontrollen zeigten [239].

Doch *episodic viral wheeze* verwächst sich nicht immer und (atopisches) *multi-trigger wheeze* führt auch nicht immer zu einer späteren Asthmadiagnose. Studien zeigen, dass auch schweres *episodic viral wheeze* mit einem deutlich erhöhten Asthmarisiko assoziiert ist [255]. Außerdem können Personen, die im Kindesalter an rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden gelitten haben, zwar im jüngeren Erwachsenenalter eine relativ gute Lungenfunktion zeigen, jedoch im höheren Erwachsenenalter rapide Verschlechterungen in der Lungenfunktion und damit möglicherweise ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer COPD aufweisen [256, 257]. Ebenso existiert der Phänotyp eines *episodic viral wheeze* nicht ausschließlich im Kindesalter, wenn er auch im Erwachsenenalter deutlich seltener ist [258]. Infolgedessen erscheint eine weitere Unterteilung von *viral wheeze* in vorübergehendes *viral wheeze* (*transient viral wheeze*) und anhaltendes *viral wheeze* (*persistent wheeze*) zutreffender [88, 255].

Studien, die sich mit der Stabilität der klinischen Phänotypen im Vorschulalter beschäftigten, zeigten, dass Wechsel von einem zum anderen Phänotyp sehr häufig sind, wobei ein Wechsel von *episodic viral wheeze* zu *multi-trigger wheeze* am häufigsten war [98, 259-261]. Eine mögliche Erklärung dafür könnte eine im Verlauf zusätzlich erworbene allergische Sensibilisierung sein [248, 260, 262]. Der deutlich seltener beschriebene Übergang von *multi-trigger wheeze* zu *episodic viral wheeze* könnte dadurch entstehen, dass durch Medikamente nur *wheeze*-Anfälle zwischen den umschriebenen Exazerbationen reduziert bzw. verhindert werden oder Eltern Symptome dazwischen weniger wahrnehmen, weil die *wheeze*-Symptomatik im Rahmen der Infektionen so viel eindrücklicher ist [81].

Die eingeschränkte Stabilität der Phänotypen zeigte sich auch innerhalb der KIRA-Studie, da einige der untersuchten Kinder an der ersten Studienvisite einer anderen Gruppe zugeordnet worden waren als an dem Studientag, an dem die VOC-Messung im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde. Untersucht wurde dabei in dieser Arbeit ausschließlich der Phänotyp bezogen auf die letzten 12 Monate. Zudem war der Anteil der Kinder mit nachgewiesener Atopie in den beiden Gruppen ausgeglichen, was der klassischen Einteilung in eher nicht-atopisches *episodic viral wheeze* und atopisches *multi-trigger wheeze* widersprach. Dementsprechend zeigt bereits diese Klassifikation, obwohl sie weit verbreitet ist, einige Limitationen. Aufgrund dieser Einschränkungen sind einige Autoren, wie z. B. Garcia-Marcos et al., der Meinung, dass die klinischen Phänotypen keine distinkten Untergruppen, sondern verschiedene *wheeze*-Schweregrade darstellen [263].

Scores, die eine Unterscheidung zwischen echtem frühkindlichem Asthma und vorübergehender *wheeze*-Symptomatik erlauben und somit Hilfestellung bezüglich der Therapieentscheidungen geben sollen, berücksichtigen eine Kombination von klinischen Befunden, wobei *wheeze* außerhalb von Erkältungen jeweils nur einer der Risikofaktoren ist und insbesondere auch Atopie, Frequenz und Schweregrad wichtige Parameter darstellen [7, 57, 67, 81, 264].

Zusammenfassend lässt sich demnach sagen, dass zwar gewisse Unterschiede zwischen *episodic viral wheeze* und *multi-trigger wheeze* beobachtet werden können und vermutlich auch zu einem gewissen Teil unterschiedliche pathogenetische Ursachen an der Krankheitsentstehung beteiligt sind. Trotz alledem wird die klinische Dichotomisierung der Komplexität von *preschool wheeze* nicht gerecht und die Phänotypen stellen nur einen schlechten prognostischen Marker für den weiteren Verlauf dar. Wahrscheinlicher erscheint, dass beide Phänotypen jeweils mehrere

spezifische Endotypen mit unterschiedlichem Verlauf repräsentieren¹³. Die in dieser Arbeit beschriebenen Differenzen in den *breathprints* sind demnach mutmaßlich entweder auf eine unterschiedlich ausgeprägte Atemwegsinflammation oder auf unbekannte Störeinflüsse zurückzuführen. Inwiefern VOC-Analysen einen relevanten Beitrag zur frühzeitigen Asthmadiagnosestellung leisten können, wird sich erst zeigen, wenn präzise Definitionen für distinkte Endotypen existieren, die auch durch spezifische, in der Ausatemluft messbare VOCs gekennzeichnet sind, oder wenn ein stabiles Modell, das zwischen Asthma und gesunden Kontrollen unterscheidet, in Kohorten mit *preschool wheeze* getestet werden kann. Das liegt jedoch vermutlich noch in weiter Zukunft.

5.2.3 Atopie

Die Unterscheidung zwischen *atopisch* und *nicht-atopisch* anhand spezifischer IgEs oder eines Prick-Tests ist wohl die häufigste Klassifikation für Asthma und spielt auch für *preschool wheeze* eine wichtige Rolle. Innerhalb der Gruppe der Asthmatiker galten in dieser Arbeit ca. 80 % als atopisch, womit der Anteil in etwa dem anderer pädiatrischer Astmakohorten entsprach [118, 173, 179]. Die *breathprints* zeigten jedoch keine Unterschiede in Abhängigkeit des Atopiestatus, weder in der Gruppe der Asthmatiker, noch in der Gruppe der Kinder mit *wheeze*. In einer Studie, die VOC-Profile mittels GC-MS analysierte, wurden Hinweise beschrieben, dass eine Unterscheidung zwischen atopischem und nicht-atopischem Asthma möglich sein könnte, jedoch wurden weder die Daten gezeigt noch weitere Analysen diesbezüglich durchgeführt [171]. In einer anderen eNose-Studie mit Erwachsenen wurden ausschließlich Personen mit allergischem Asthma eingeschlossen, sodass eine Differenzierung nicht untersucht werden konnte [134]. Aufgrund der sehr limitierten Literatur zu Unterschieden in den VOC-Profilen in Abhängigkeit des Atopiestatus, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob eine Diskriminierung zwischen *atopisch* und *nicht-atopisch* anhand der *breathprints* zu erwarten gewesen wäre.

Es ist durchaus möglich, dass die bereits ausführlich in 5.2.1 diskutierten potenziellen methodischen Ursachen für die fehlende Diskriminierung verantwortlich sind, obwohl Atopie-spezifische Unterschiede zwischen den VOC-Profilen in der Ausatemluft vorhanden sind. Allerdings ist auch allergisches Asthma sehr heterogen bezüglich der Verläufe und des Ansprechens auf medikamentöse Therapie [265] und Humbert et al.

¹³ siehe auch Abbildung 1 unter Kapitel 1.1.4, Seite 6

beschrieben bereits 1999 viele gemeinsame immunpathologische Mechanismen, die vermutlich sowohl bei allergischem als auch bei nicht-allergischem Asthma Bedeutung haben [266]. Weil mit Omalizumab, einem monoklonalen Antikörper, der gegen IgE gerichtet ist, eine zielgerichtete Therapie bei schwerem allergischem Asthma auf dem Markt ist, kann die Klassifikation direkten Einfluss auf die Therapieentscheidung haben. Studien zeigen jedoch, dass IgE auch bei nicht-allergischem Asthma eine Rolle spielen könnte, was eine Erklärung für das bereits beschriebene Ansprechen auf eine Therapie mit Omalizumab bei nicht-atopischem Asthma darstellen würde [267, 268]. Diese Ergebnisse unterstützen ebenfalls die Hypothese, dass allergisches und nicht-allergisches Asthma mehr Gemeinsamkeiten als Unterschiede aufweisen und demnach eine klare Unterscheidung nicht möglich ist. Ebenso konnte gezeigt werden, dass typische Atemwegspathologien bei *preschool wheeze* gleichermaßen bei Kindern mit und ohne Atopie vorhanden waren [239, 269], sodass für diese Gruppen Ähnliches gelten könnte.

In dieser Arbeit wurden atopisches Asthma und *wheeze* lediglich anhand der Sensibilisierung für Allergene definiert. Spezifischere Definitionen berücksichtigen auch die klinische Präsentation, sodass ein allergisches Asthma bzw. *wheeze* nur vorliegt, wenn zusätzlich zur Sensibilisierung eine Asthma-typische Symptomatik bei Exposition gegenüber dem nachgewiesenen Allergen beobachtet werden kann [265, 270]. Viele Studien verwenden als minimalen Grenzwert für den Nachweis einer Sensibilisierung einen Wert von 0,35 kU/l für spezifische IgEs im peripheren Blut [31, 178, 271, 272]. Jedoch ist die klinische Bedeutung für solch geringe Werte fraglich [273], sodass – in der Hoffnung, dass die Einteilung dadurch eine größere klinische Relevanz hat – für diese Arbeit ein etwas höherer Grenzwert gewählt wurde. Ob eine Dichotomisierung allerdings überhaupt sinnvoll ist, bleibt unklar, weshalb Marinho et al. vorschlugen, Atopie als quantitative, kontinuierliche Variable zu betrachten [274]. Da auch die Summe der spezifischen IgEs keine Korrelation mit den Hauptkomponenten zeigte, weisen unsere Ergebnisse daraufhin, dass auch diese Form der Definition von Atopie keinen Einfluss auf die untersuchten *breathprints* hatte.

5.2.4 Asthma-Schweregrad

Die meisten Patientinnen und Patienten mit Asthma können mit den derzeit verfügbaren Medikamenten effektiv behandelt werden. Jedoch bleibt ein kleiner Teil mit schwierig therapierbarem oder schwerem Asthma, der weiterhin deutliche Einschränkungen in der Lebensqualität aufweist und hohe Kosten für das Gesundheitssystem verursacht. Die Definition von schwerem Asthma ist nicht ganz

einheitlich, jedoch verstehen die meisten darunter ein Asthma, das entweder trotz ausreichender Therapie weiterhin zu relevanten Symptomen führt und mit einer Minderung des Luftflusses assoziiert ist, oder das nur durch hohe Dosen von inhalativen Corticosteroiden und zusätzliche Medikamente ausreichend kontrolliert werden kann [26, 104, 275-277]. In dieser Arbeit sollte unter anderem auch untersucht werden, ob Kriterien, die Hinweise auf den Schweregrad geben, wie z. B. der Medikamentenbedarf, mit unterschiedlichen VOC-Profilen in der Ausatemluft verbunden sind.

Bereits zuvor ausführlich diskutierte Limitationen, wie der möglicherweise überwiegende Einfluss exogener VOCs oder kleine bzw. ungleiche Gruppengrößen, müssen auch bei der Interpretation der folgenden Ergebnisse berücksichtigt werden.

Eine Abgrenzung von Kindern mit einer milden Form von Asthma, die nur gelegentlich bronchodilatierende Medikamente bei Bedarf erhielten, von Kindern, die dauerhaft Corticosteroide inhalierten, war anhand der *breathprints* nicht möglich. Die dazu bereits veröffentlichten Ergebnisse sind widersprüchlich. Die fehlende Unterscheidungsfähigkeit ist vergleichbar mit den Ergebnissen von Dragonieri et al., die VOC-Profile von Erwachsenen mit mildem und schwerem Asthma, das anhand der medikamentösen Therapie definiert wurde, nur schlecht mittels eNose diskriminieren konnten [134]. Eine andere Studie hingegen zeigte, dass ebenfalls mittels elektronischer Nase Kinder mit ICS-Therapie deutlich von denen mit ausschließlicher Bedarfsmedikation unterschieden werden konnten [169]. Wichtig für ein belastbares Ergebnis ist in jedem Falle, dass zunächst der direkte Einfluss von Partikeln aus den Asthmasprays durch ausreichend lange Wartezeiten zwischen der letzten Medikamenteneinnahme und der Messung der VOC-Profile minimiert wird [154]. Weitere Studien müssen zeigen, ob das Therapieregime sich direkt in den *breathprints* widerspiegelt oder ob die möglicherweise daraus resultierenden Unterschiede im Ausmaß der Entzündung für die beobachtete Diskriminierung verantwortlich sind.

VOC-Profile von Kindern mit bronchialer Obstruktion konnten mit moderater Trennschärfe von Kindern mit normaler Lungenfunktion unterschieden werden. Zwei Hauptkomponenten zeigten zumindest einen Trend zur Korrelation mit dem Tiffeneau-Index. In dieser Arbeit wurde der Tiffeneau-Index stellvertretend für die Lungenfunktion untersucht, da er im Kindesalter weitgehend altersunabhängig ist. Aufgrund des episodischen Charakters von Asthmaanfällen und da auch Kinder mit schwerem Asthma normale Werte in der Lungenfunktion aufweisen können, ist es jedoch fraglich, inwiefern anhand eines einmalig gemessenen Tiffeneau-Indexes eine Einteilung in

Schweregrade erfolgen sollte. In vorangegangenen Studien hatte das durch Medikamente akut veränderte Atemwegskaliber keinen Einfluss auf *breathprints* [154] und die Diskriminationsfähigkeit einer elektronischen Nase war unabhängig von den Ergebnissen der zuvor ermittelten Lungenfunktion [169]. Es bleibt demnach offen, worauf der hier beschriebene Unterschied zurückzuführen ist. Angesichts der ungleichen Gruppengröße und des geringen Varianzanteils der diskriminierenden Hauptkomponente sind auch statistische Artefakte eine mögliche Erklärung.

Zur Einschätzung des Grades der Asthmakontrolle im Kindesalter wurden verschiedene Möglichkeiten, wie z. B. die GINA-Kriterien, der *Asthma Control Test* oder das *Asthma Control Questionnaire* entwickelt, die u. a. Symptome, den Einsatz von Notfallmedikamenten und Exazerbationen berücksichtigen [13, 278, 279]. Ziel ist es, nicht zufriedenstellend behandelte Asthmatiker zu identifizieren, sodass die Therapie entsprechend dem Stufenschema intensiviert werden kann. In dieser Studie kamen die GINA-Kriterien bezogen auf die letzten vier Wochen zum Einsatz. Kinder mit teilweise kontrolliertem und unkontrolliertem Asthma wurden anschließend zu einer Gruppe zusammengefasst. Eine Unterscheidung zwischen aktuell kontrolliertem und nicht-kontrolliertem Asthma war anhand der ausgeatmeten VOC-Profile nicht möglich. Einige Studien haben sich bereits mit der Frage beschäftigt, ob nicht-ausreichend kontrolliertes Asthma zu distinkten *breathprints* führt. Zwei Arbeitsgruppen konnten, entsprechend den Ergebnissen in dieser Arbeit, keine grundsätzliche Korrelation mit dem aktuellen Grad der Asthmakontrolle nachweisen [180, 280], allerdings war eine elektronische Nase in der Lage, einen Kontrollverlust im Vergleich zum kontrollierten Ausgangszustand und zur klinischen Erholung zu identifizieren [163] und auch Gruppen mit dauerhaft kontrolliertem bzw. unkontrolliertem Asthma zeigten voneinander abweichende exhalierte VOC-Profile [180, 281].

Alle diese Ergebnisse zusammengefasst legen nahe, dass akute und kurzfristige Änderungen des Grades der Asthmakontrolle und der Lungenfunktion wenig Einfluss auf VOCs in der Ausatemluft haben. Diese Hypothese wird zudem durch eine GC-MS Studie zu pädiatrischem Asthma unterstützt, in der nur ein VOC mit akuten Asthmasymptomen assoziiert war [282]. Über längere Zeit schlecht eingestelltes Asthma, z. B. in den oben genannten Studien zu dauerhaft unkontrolliertem Asthma über den Zeitraum von einem Jahr, könnte hingegen möglicherweise durch anhaltende Atemwegsinflammation zu charakteristischen VOC-Profilen führen.

5.3 Limitationen und Stärken

Viele Limitationen und Stärken dieser Arbeit wurden bereits ausgiebig besprochen, sodass hier lediglich eine abschließende Zusammenfassung erfolgen soll. Die Studie war eine der ersten, die VOC-Analysen in der Ausatemluft mittels elektronischer Nase in einer pädiatrischen Kohorte mit Asthma und *preschool wheeze* durchführte und untersuchte, ob diese Methode vom Kindergarten- bis ins junge Erwachsenenalter grundsätzliche durchführbar ist. Um ein standardisiertes Vorgehen bei allen Untersuchungen und jeglicher Materialgewinnung zu gewährleisten, wurden detaillierte Arbeitsanweisungen entworfen. Weitere Stärken waren zudem die strengen Ein- und Ausschlusskriterien und die umfangreiche Datenerhebung. Die Verwendung von Fragebögen zur Einschätzung der Symptome birgt das Risiko von Bias durch falsche oder unvollständige Erinnerungen der Eltern und Kinder. Um den Einfluss möglichst gering zu halten, wurde der Fragebogen gemeinsam mit einer geschulten Mitarbeiterin oder einem geschulten Mitarbeiter der Studie ausgefüllt, sodass Unklarheiten direkt geklärt werden konnten.

Die größten Schwachstellen der Arbeit waren die geringe Anzahl an untersuchten Kindern und insbesondere die ungleiche Verteilung der Gruppengrößen. Obwohl die ALLIANCE Studie eine Längsschnittstudie ist und somit in gewissen Maßen auch longitudinale Daten vorlagen, wurden VOC-Messungen für diese Arbeit nur einmal pro Kind durchgeführt, sodass keine Aussagen über deren Verlauf getroffen werden können. Im Gegensatz zu Geburtskohorten kann außerdem bei der späteren Rekrutierung von Kindern eine gewisse Selektivität nicht ausgeschlossen werden, sodass keine vollständige Repräsentativität für entsprechende Gruppen in der Allgemeinbevölkerung bestand.

Die verwendeten Methoden waren zuvor durch eine andere Arbeitsgruppe am AMC entwickelt und validiert worden und hatten dort zu vielversprechenden Ergebnissen geführt. Außerdem hatten Cyranose®-320-Geräte, wie sie in dieser Studie zum Einsatz kamen, bereits gute Diskriminationsfähigkeiten bezüglich Asthma und *wheeze* gezeigt. Trotzdem waren kleine Anpassungen und Abweichungen im Studienprotokoll nötig, die möglicherweise negative Auswirkungen auf die Ergebnisse in dieser Arbeit hatten. Auch die mangelnde Qualitätskontrolle der Messungen stellte einen Nachteil dar. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die größte Limitation bezüglich des klinischen Einsatzes der eNose-Technologie die bisher unzureichende Standardisierung ist.

5.4 Schlussfolgerung

Bereits seit mehr als zehn Jahren werden *breathomics* als „vielversprechend“ für den klinischen Einsatz in der Diagnostik und im Management von Patientinnen und Patienten mit Asthma und *wheeze* bezeichnet. Trotz Verwendung einer bereits validierten Methodik zur VOC-Analyse in der Ausatemluft mittels elektronischer Nase konnte unsere Studie bisher veröffentlichte Ergebnisse nicht replizieren, sodass Grund zur Annahme besteht, dass der klinische Einsatz der elektronischen Nase noch in weiter Ferne liegt. Zukünftige Studien werden zeigen müssen, ob die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen dennoch reproduzierbar sind und anschließend eine Etablierung im klinischen Alltag möglich ist. Die wichtigsten Aufgaben werden dabei die Einführung standardisierter Methoden, die Durchführung longitudinaler Studien und die Bestätigung der Ergebnisse in größeren Kohorten und durch externe Validierung sein. Möglicherweise könnten – durch Integration von GC-MS- und eNose-Technologie – spezielle eNose-Sensoren entwickelt werden, die spezifisch mit krankheits- oder Phänotypen-relevanten VOCs reagieren und somit zu einer Optimierung der Diskriminationsfähigkeit der Geräte führen [118, 193, 202]. Um langfristig die klinische Versorgung von Asthmatikern zu verbessern, muss dieses Bestreben durch unabhängige Bemühungen, die präzise Klassifikation von Asthma- und Wheeze-Phänotypen bzw. Endotypen voranzutreiben, unterstützt werden.

6 Zusammenfassung

Asthma ist die häufigste chronische Atemwegserkrankung im Kindesalter. Obwohl sich die klinischen Symptome von Asthma bei den Betroffenen meist sehr ähneln, weisen verschiedene klinische und genetische Studien darauf hin, dass Asthma keine einzelne Erkrankung ist, sondern aus heterogenen Untergruppen besteht. Aktuell existieren jedoch keine spezifischen Biomarker für verschiedene Untergruppen und es ist schwer, den Krankheitsverlauf über die frühe Kindheit hinweg bis ins Erwachsenenalter vorherzusagen. Insbesondere vor dem Schulalter ist zudem bereits die korrekte Diagnosestellung eine Herausforderung, da bislang nur schwer zwischen vorübergehender *wheeze*-Symptomatik (engl. für pfeifende Atmung), die meist im Rahmen von Infektionen auftritt, und echtem frühkindlichen Asthma unterschieden werden kann.

Ausgeatmete Luft enthält Tausende von volatilen organischen Substanzen (volatile organic compounds, VOCs) vielfältiger Herkunft, die sich grob in exogene und endogene Substanzen unterteilen lassen. Unter den exogenen Stoffen findet man unter anderem inhalierte Partikel und Medikamente, Geruchsstoffe von Essen und Trinken, Zigarettenrauch und Metaboliten von lokalen Bakterien. Endogene Substanzen können sowohl lokal in den Atemwegen produziert werden, wie z. B. bei Inflammation, als auch aus der Zirkulation stammen und über die Lunge abgegeben werden. Ausatemluft enthält also individuelle VOC-Profile, die Hinweise auf physiologische und pathophysiologische Vorgänge geben können. Verschiedene Studien konnten bereits zeigen, dass VOC-Profile bei Asthmatikern krankheitsspezifisch verändert sind und somit die Abgrenzung zu gesunden Kontrollen möglich ist. Eine Methode der VOC-Analyse ist die sogenannte elektronische Nase (eNose), ein tragbares Gerät, das ein unbekanntes Gasgemisch nach Reaktion mit 32 kreuzreaktiven Sensoren durch Mustererkennungs-Algorithmen einem bekannten Gemisch zuordnet, ohne dabei jedoch die Einzelstoffe zu identifizieren.

Das erste Ziel dieser Arbeit war zunächst die Etablierung dieser Methodik zur VOC-Analyse. Die Messungen fanden im Rahmen des pädiatrischen Arms der ALLIANCE-Studie (All Age Asthma Cohort) des Deutschen Zentrums für Lungenforschung (DZL) statt, deren Vorsatz es ist, ein besseres Verständnis für die Entstehung von pfeifenden Atemwegserkrankungen zu entwickeln und Biomarker als Prädiktoren für den Langzeitverlauf zu entdecken. Anschließend sollte die grundsätzliche Machbarkeit der Methode, sowie die Fähigkeit zur Unterscheidung zwischen Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen und die Diskriminierung von

verschiedenen Untergruppen anhand exhalierter VOC-Profile untersucht werden. Während der Materialgewinnung wurde von den Teilnehmenden über ein speziell für diese Arbeit entworfenes Setup gefilterte Raumluft eingeatmet und Ausatemluft in einem Tedlar®-Beutel gesammelt, welcher zuvor mit Stickstoff gespült worden war. Das Kind musste etwa 15-20 Atemzüge in Ruheatmung ausführen. Im direkten Anschluss wurde der gefüllte Beutel mittels eNose analysiert. Die Fähigkeit zur Unterscheidung der untersuchten Gruppen wurde mittels Hauptkomponentenanalyse, Welch-Test und Diskriminanzanalyse getestet.

Die Ergebnisse waren trotz guter allgemeiner Machbarkeit der Methode widersprüchlich und eine klare Abgrenzung von Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen und gesunden Kontrollen war anhand der Sensorsignale der eNose nicht möglich. Das Alter scheint ein relevanter Einflussfaktor auf die hohe Variabilität der Daten zu sein, doch auch nach Altersadjustierung war eine Diskrimination nicht möglich. Anschließend untersuchte Subgruppen, wie Kinder mit *episodic viral wheeze* (nur mit viralen Erkältungen assoziierten Episoden pfeifender Atmung) und *multi-trigger wheeze* (zusätzlich Symptome durch andere Auslöser wie z. B. Allergene oder Anstrengung zwischen distinkten *wheeze*-Episoden) konnten zwar mit moderater Trennschärfe voneinander unterschieden werden, jedoch bleibt es fraglich, ob dies wirklich auf krankheitsrelevante VOCs zurückzuführen und nicht durch andere Einflüsse oder statistische Artefakte entstanden ist. Hauptprobleme der Methode sind aktuell die fehlende Standardisierung und die hohe Störanfälligkeit durch äußere und individuelle Einflüsse, wie z. B. Umgebungsluft, Essen, Trinken oder Rauchen.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse, dass VOC-Analysen noch einen weiten Weg bis zur Einsetzbarkeit in der klinischen Versorgung von Kindern mit obstruktiven Atemwegserkrankungen vor sich haben. Zukünftige Forschung wird zeigen müssen, ob sie sich durch die Etablierung standardisierter und verbesserter Methoden zu einem klinischen Hilfsmittel für die Diagnosestellung und die Charakterisierung von Asthma-Phänotypen entwickeln können.

7 Literaturverzeichnis

1. Martinez, F.D., et al., *Asthma and wheezing in the first six years of life*. N Engl J Med, 1995. **332**(3): 133-138.
2. Matricardi, P.M., et al., *Wheezing in childhood: incidence, longitudinal patterns and factors predicting persistence*. Eur Respir J, 2008. **32**(3): 585-592.
3. Brand, P.L., et al., *Definition, assessment and treatment of wheezing disorders in preschool children: an evidence-based approach*. Eur Respir J, 2008. **32**(4): 1096-1110.
4. von Mutius, E., *Trajectories of childhood wheeze*. J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(6): 1513-1514.
5. *Taschenwörterbuch Englisch*. 2009, Berlin und München: Langenscheidt. 1584.
6. Asher, I. und N. Pearce, *Global burden of asthma among children*. Int J Tuberc Lung Dis, 2014. **18**(11): 1269-1278.
7. Pescatore, A.M., et al., *A simple asthma prediction tool for preschool children with wheeze or cough*. J Allergy Clin Immunol, 2014. **133**(1): 111-118.e113.
8. Pavord, I.D., et al., *After asthma: redefining airways diseases*. Lancet, 2018. **391**(10118): 350-400.
9. Editorial, *A plea to abandon asthma as a disease concept*. Lancet, 2006. **368**(9537): 705.
10. Wenzel, S.E., *Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches*. Nat Med, 2012. **18**(5): 716-725.
11. Zedan, M.M., et al., *Clinical asthma phenotyping: A trial for bridging gaps in asthma management*. World J Clin Pediatr, 2015. **4**(2): 13-18.
12. Lotvall, J., et al., *Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome*. J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(2): 355-360.
13. Global Initiative for Asthma, *Global Strategy for Asthma management and Prevention, 2018*. verfügbar unter: www.ginasthma.org.
14. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF), *Nationale VersorgungsLeitlinie Asthma – Langfassung*. 2018: 3. Auflage, Version 1.
15. Guilbert, T. und M. Krawiec, *Natural history of asthma*. Pediatr Clin North Am, 2003. **50**(3): 523-538.
16. Martinez, F.D. und D. Vercelli, *Asthma*. Lancet, 2013. **382**(9901): 1360-1372.
17. Frey, U. und E. von Mutius, *The challenge of managing wheezing in infants*. N Engl J Med, 2009. **360**(20): 2130-2133.
18. Fuchs, O., et al., *The all age asthma cohort (ALLIANCE) - from early beginnings to chronic disease: a longitudinal cohort study*. BMC Pulm Med, 2018. **18**(1): 140.
19. Fitzpatrick, A.M. und L.B. Bacharier, *One step forward, 2 steps back: The enigma of preschool wheeze*. J Allergy Clin Immunol, 2019. **143**(5): 1734–1735

20. Mallol, J., et al., *The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis*. Allergol Immunopathol (Madr), 2013. **41**(2): 73-85.
21. Ellwood, P., et al., *The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): phase three rationale and methods*. Int J Tuberc Lung Dis, 2005. **9**(1): 10-16.
22. World Health Organization. *Chronic respiratory diseases - Asthma*. [Zugriff am 14.02.2019]; <https://www.who.int/respiratory/asthma/en/>.
23. Masoli, M., et al., *The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report*. Allergy, 2004. **59**(5): 469-478.
24. Yeatts, K., et al., *Health consequences for children with undiagnosed asthma-like symptoms*. Arch Pediatr Adolesc Med, 2003. **157**(6): 540-544.
25. Ferrante, G. und S. La Grutta, *The Burden of Pediatric Asthma*. Front Pediatr, 2018. **6**: 186.
26. Fleming, L., et al., *The burden of severe asthma in childhood and adolescence: results from the paediatric U-BIOPRED cohorts*. Eur Respir J, 2015. **46**(5): 1322-1333.
27. Carraro, S., et al., *Early-life origins of chronic respiratory diseases: understanding and promoting healthy ageing*. Eur Respir J, 2014. **44**(6): 1682-1696.
28. Bush, A. und A. Menzies-Gow, *Phenotypic differences between pediatric and adult asthma*. Proc Am Thorac Soc, 2009. **6**(8): 712-719.
29. Burke, H., et al., *Prenatal and Passive Smoke Exposure and Incidence of Asthma and Wheeze: Systematic Review and Meta-analysis*. Pediatrics, 2012. **129**(4): 735-744.
30. Illi, S., et al., *Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study*. Lancet, 2006. **368**(9537): 763-770.
31. Jackson, D.J., et al., *Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **178**(7): 667-672.
32. Noutsios, G.T. und J. Floros, *Childhood asthma: causes, risks, and protective factors; a role of innate immunity*. Swiss Med Wkly, 2014. **144**: w14036.
33. Brightling, C.E., et al., *Mast-Cell Infiltration of Airway Smooth Muscle in Asthma*. New England Journal of Medicine, 2002. **346**(22): 1699-1705.
34. Holtzman, M.J., *Asthma as a chronic disease of the innate and adaptive immune systems responding to viruses and allergens*. The Journal of Clinical Investigation, 2012. **122**(8): 2741-2748.
35. Wark, P.A.B., et al., *Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus*. The Journal of Experimental Medicine, 2005. **201**(6): 937-947.
36. Lambrecht, B.N. und H. Hammad, *The airway epithelium in asthma*. Nature Medicine, 2012. **18**: 684.
37. von Mutius, E., *Pädiatrische Pneumologie*. 2013, Berlin Springer. 923.
38. Papi, A., et al., *Asthma*. Lancet, 2018. **391**(10122): 783-800.
39. Koletzko, B. und G.-A.v. Harnack, *Kinder- und Jugendmedizin*. 2013, Berlin [u.a.]: Springer. 676.

40. Eder, W., M.J. Ege, und E. von Mutius, *The asthma epidemic*. N Engl J Med, 2006. **355**(21): 2226-2235.
41. Latzin, P. und O. Fuchs, *Asthma diagnosis in children: more evidence needed*. Lancet Child Adolesc Health, 2017. **1**(2): 83-85.
42. Holgate, S.T., et al., *Asthma*. Nat Rev Dis Primers, 2015. **1**: 15025.
43. Tenero, L., et al., *Measuring Airway Inflammation in Asthmatic Children*. Front Pediatr, 2018. **6**: 196.
44. Vijverberg, S.J., et al., *Clinical utility of asthma biomarkers: from bench to bedside*. Biologics, 2013. **7**: 199-210.
45. Connett, G.J., *Bronchoalveolar lavage*. Paediatr Respir Rev, 2000. **1**(1): 52-56.
46. Payne, D., et al., *Safety and ethics of bronchoscopy and endobronchial biopsy in difficult asthma*. Arch Dis Child, 2001. **84**(5): 423-426.
47. Wilson, N.M., et al., *Induced sputum in children: feasibility, repeatability, and relation of findings to asthma severity*. Thorax, 2000. **55**(9): 768-774.
48. Spahn, J.D., J. Malka, und S.J. Szefer, *Current application of exhaled nitric oxide in clinical practice*. J Allergy Clin Immunol, 2016. **138**(5): 1296-1298.
49. Petsky, H.L., K.M. Kew, und A.B. Chang, *Exhaled nitric oxide levels to guide treatment for children with asthma*. Cochrane Database Syst Rev, 2016. **11**: CD011439.
50. Petsky, H.L., et al., *Exhaled nitric oxide levels to guide treatment for adults with asthma*. Cochrane Database Syst Rev, 2016. **9**: CD011440.
51. Tesse, R., et al., *Treating Pediatric Asthma According Guidelines*. Front Pediatr, 2018. **6**: 234.
52. Mokhallati, N. und T.W. Guilbert, *Moving towards precision care for childhood asthma*. Curr Opin Pediatr, 2016. **28**(3): 331-338.
53. Lau, S., et al., *Transient early wheeze is not associated with impaired lung function in 7-yr-old children*. Eur Respir J, 2003. **21**(5): 834-841.
54. Savenije, O.E., et al., *Comparison of childhood wheezing phenotypes in 2 birth cohorts: ALSPAC and PIAMA*. J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(6): 1505-1512.e1514.
55. Sarafino, E.P., M.E. Paterson, und E.L. Murphy, *Age and the Impacts of Triggers in Childhood Asthma*. Journal of Asthma, 1998. **35**(2): 213-217.
56. Chang, T.S., et al., *Evaluation of the modified asthma predictive index in high-risk preschool children*. J Allergy Clin Immunol Pract, 2013. **1**(2): 152-156.
57. Castro-Rodriguez, J.A., et al., *A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing*. Am J Respir Crit Care Med, 2000. **162**(4 Pt 1): 1403-1406.
58. Brand, P.L., *Predicting the outcome of early childhood wheeze: mission impossible*. Prim Care Respir J, 2014. **23**(1): 10-11.
59. Cano-Garcinuño, A., et al., *Wheezing phenotypes in young children: an historical cohort study*. Prim Care Respir J, 2014. **23**: 60.
60. Paul, S.P. und J.M. Bhatt, *Preschool Wheeze is Not Asthma: A Clinical Dilemma*. Indian J Pediatr, 2014. **81**(11): 1193-1195.
61. Ross, K.R., W.G. Teague, und B.M. Gaston, *Life Cycle of Childhood Asthma: Prenatal, Infancy and Preschool, Childhood, and Adolescence*. Clin Chest Med, 2019. **40**(1): 125-147.

62. Ducharme, F.M., S.M. Tse, und B. Chauhan, *Diagnosis, management, and prognosis of preschool wheeze*. Lancet, 2014. **383**(9928): 1593-1604.
63. Contoli, M. und A. Papi, *When asthma diagnosis becomes a challenge*. Eur Respir J, 2010. **36**(2): 231-233.
64. Bannier, M.A., et al., *Biomarkers to predict asthma in wheezing preschool children*. Clin Exp Allergy, 2015. **45**(6): 1040-1050.
65. Pite, H., A. Gaspar, und M. Morais-Almeida, *Preschool-age wheezing phenotypes and asthma persistence in adolescents*. Allergy Asthma Proc, 2016. **37**(3): 231-241.
66. Wandalsen, G.F., D. Solé, und L.B. Bacharier, *Identification of infants and preschool children at risk for asthma: predictive scores and biomarkers*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2016. **16**(2): 120-126.
67. Caudri, D., et al., *Predicting the long-term prognosis of children with symptoms suggestive of asthma at preschool age*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **124**(5): 903-910.
68. Bonato, M., et al., *Clinical and Pathologic Factors Predicting Future Asthma in Wheezing Children. A Longitudinal Study*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2018. **59**(4): 458-466.
69. Pedersen, E.S.L., et al., *The Simple 10-Item Predicting Asthma Risk in Children Tool to Predict Childhood Asthma-An External Validation*. J Allergy Clin Immunol Pract, 2019. **7**(3): 943-953.e944.
70. Bacharier, L.B., et al., *Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report*. Allergy, 2008. **63**(1): 5-34.
71. Moral, L., et al., *Asthma diagnosis in infants and preschool children: a systematic review of clinical guidelines*. Allergol Immunopathol, 2019. **47**(2): 107-121.
72. Kassenärztliche Vereinigung Bayerns. *Verordnung Aktuell, Hilfsmittel: Verordnungsfähigkeit von Spacern für Dosieraerosole*. 2019 [Zugriff am 08.08.2019];
<https://www.kvb.de/fileadmin/kvb/dokumente/Praxis/Verordnung/VO-aktuell/2019/KVB-VA-190503-HIP-Spacer-Dosieraerosole.pdf>.
73. Holmgren, D., et al., *Transcutaneous blood gas monitoring during salbutamol inhalations in young children with acute asthmatic symptoms*. Pediatr Pulmonol, 1992. **14**(2): 75-79.
74. Pool, J.B., et al., *Inhaled bronchodilator treatment via the nebulizer in young asthmatic patients*. Arch Dis Child, 1988. **63**(3): 288-291.
75. Chavasse, R.J., et al., *Inhaled salbutamol for wheezy infants: a randomised controlled trial*. Arch Dis Child, 2000. **82**(5): 370-375.
76. Prendiville, A., S. Green, und M. Silverman, *Paradoxical response to nebulised salbutamol in wheezy infants, assessed by partial expiratory flow-volume curves*. Thorax, 1987. **42**(2): 86-91.
77. Panickar, J., et al., *Oral prednisolone for preschool children with acute virus-induced wheezing*. N Engl J Med, 2009. **360**(4): 329-338.
78. Castro-Rodriguez, J.A. und G.J. Rodrigo, *Efficacy of inhaled corticosteroids in infants and preschoolers with recurrent wheezing and asthma: a systematic review with meta-analysis*. Pediatrics, 2009. **123**(3): e519-525.

79. Ducharme, F.M., et al., *Preemptive use of high-dose fluticasone for virus-induced wheezing in young children*. N Engl J Med, 2009. **360**(4): 339-353.
80. Guilbert, T.W., et al., *Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma*. N Engl J Med, 2006. **354**(19): 1985-1997.
81. Brand, P.L., et al., *Classification and pharmacological treatment of preschool wheezing: changes since 2008*. Eur Respir J, 2014. **43**(4): 1172-1177.
82. „Phänotyp“ auf Duden online. [Zugriff am 14.03.2019]; <https://www.duden.de/node/797591/revisions/2008274/view>.
83. Anderson, G.P., *Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease*. Lancet, 2008. **372**(9643): 1107-1119.
84. Xie, M. und S.E. Wenzel, *A global perspective in asthma: from phenotype to endotype*. Chin Med J (Engl), 2013. **126**(1): 166-174.
85. Spycher, B.D., M. Silverman, und C.E. Kuehni, *Phenotypes of childhood asthma: are they real?* Clin Exp Allergy, 2010. **40**(8): 1130-1141.
86. Reddy, M.B. und R.A. Covar, *Asthma phenotypes in childhood*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2016. **16**(2): 127-134.
87. Depner, M., et al., *Clinical and epidemiologic phenotypes of childhood asthma*. Am J Respir Crit Care Med, 2014. **189**(2): 129-138.
88. Spycher, B.D., et al., *Comparison of phenotypes of childhood wheeze and cough in 2 independent cohorts*. J Allergy Clin Immunol, 2013. **132**(5): 1058-1067.
89. Romanet-Manent, S., et al., *Allergic vs nonallergic asthma: what makes the difference?* Allergy, 2002. **57**(7): 607-613.
90. Rackemann, F.M., *A working classification of asthma*. Am J Med, 1947. **3**(5): 601-606.
91. Wahn, U. und C. Bachert, *Pädiatrische Allergologie und Immunologie*. 2005, München [u.a.]: Elsevier, Urban & Fischer. 985.
92. Matthys, H., *Klinische Pneumologie*. 2008, Heidelberg: Springer. 754.
93. Fireman, P., *Understanding asthma pathophysiology*. Allergy Asthma Proc, 2003. **24**(2): 79-83.
94. Ott, H., M. Kopp, und L. Lange, *Kinderallergologie in Klinik und Praxis*. 2014, Berlin [u.a.]: Springer. 339.
95. Lambrecht, B.N. und H. Hammad, *The immunology of asthma*. Nature Immunology, 2014. **16**: 45.
96. Peters, S.P., *Asthma phenotypes: nonallergic (intrinsic) asthma*. J Allergy Clin Immunol Pract, 2014. **2**(6): 650-652.
97. Kutzora, S., et al., *Asthmatic/wheezing phenotypes in preschool children: Influential factors, health care and urban-rural differences*. Int J Hyg Environ Health, 2018. **221**(2): 293-299.
98. van Wonderen, K.E., et al., *Stability and predictiveness of multiple trigger and episodic viral wheeze in preschoolers*. Clin Exp Allergy, 2016. **46**(6): 837-847.
99. Nichols, B., et al., *Detection of undiagnosed and poorly controlled asthma in a hospital-based outpatient pediatric primary care clinic using a health risk assessment system*. J Asthma, 2009. **46**(5): 498-505.

100. Walus, I., et al., *Underdiagnosed asthma in third-grade children*. Arch Pediatr, 2016. **23**(1): 9-13.
101. Clark, B.R., et al., *Evidence of high rates of undiagnosed asthma in central Ohio elementary schoolchildren*. J Sch Health, 2013. **83**(12): 896-906.
102. Zejda, J.E., et al., *Socio-demographic factors related to under-diagnosis of childhood asthma in Upper Silesia, Poland*. Ann Agric Environ Med, 2017. **24**(2): 171-175.
103. Bruzzese, J.-M., et al., *Individual and Neighborhood Factors Associated with Undiagnosed Asthma in a Large Cohort of Urban Adolescents*. J Urban Health, 2019. **96**(2): 252-261.
104. Fitzpatrick, A.M., et al., *Features of severe asthma in school-age children: Atopy and increased exhaled nitric oxide*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **118**(6): 1218-1225.
105. Chung, K.F., *Asthma phenotyping: a necessity for improved therapeutic precision and new targeted therapies*. J Intern Med, 2016. **279**(2): 192-204.
106. FDA-NIH Biomarker Working Group, *BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource*. 2016, Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US). [Zugriff am 16.05.2019]; www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/
107. Ozdemir, C., et al., *The concepts of asthma endotypes and phenotypes to guide current and novel treatment strategies*. Expert Rev Respir Med, 2018. **12**(9): 733-743.
108. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz. 31. Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Verordnung zur Begrenzung der Emissionen flüchtiger organischer Verbindungen bei der Verwendung organischer Lösemittel in bestimmten Anlagen) (31. BImSchV) § 2 Begriffsbestimmungen. [Zugriff am 01.05.2019]; https://www.gesetze-im-internet.de/bimschv_31/_2.html.
109. Cicoella, A., *Volatile Organic Compounds (VOC): definition, classification and properties*. Rev Mal Respir, 2008. **25**(2): 155-163.
110. Phillips, M., et al., *Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999. **729**(1-2): 75-88.
111. Miekisch, W., J.K. Schubert, und G.F. Noeldge-Schomburg, *Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds*. Clin Chim Acta, 2004. **347**(1-2): 25-39.
112. Dragonieri, S., et al., *Electronic Nose Technology in Respiratory Diseases*. Lung, 2017. **195**(2): 157-165.
113. Finamore, P., S. Scarlata, und R.A. Incalzi, *Breath analysis in respiratory diseases: state-of-the-art and future perspectives*. Expert Rev Mol Diagn, 2018: 1-15.
114. Kamboures, M.A., et al., *Breath sulfides and pulmonary function in cystic fibrosis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(44): 15762-15767.
115. Moser, B., et al., *Mass spectrometric profile of exhaled breath--field study by PTR-MS*. Respir Physiol Neurobiol, 2005. **145**(2-3): 295-300.
116. van de Kant, K.D.G., et al., *Exhaled breath profiling in diagnosing wheezy preschool children*. Eur Respir J, 2013. **41**(1): 183-188.

117. de Lacy Costello, B., et al., *A review of the volatiles from the healthy human body*. J Breath Res, 2014. **8**(1): 014001.
118. Robroeks, C.M., et al., *Exhaled volatile organic compounds predict exacerbations of childhood asthma in a 1-year prospective study*. Eur Respir J, 2013. **42**(1): 98-106.
119. van der Schee, M.P., et al., *Breathomics in lung disease*. Chest, 2015. **147**(1): 224-231.
120. Buszewski, B., et al., *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*. Biomed Chromatogr, 2007. **21**(6): 553-566.
121. Pennazza, G., et al., *Interpretation of exhaled volatile organic compounds*. Eur Respir Mon, 2010. **49**: 115-129.
122. Wilson, A.D., *Advances in Electronic-Nose Technologies for the Detection of Volatile Biomarker Metabolites in the Human Breath*. Metabolites, 2015. **5**(1): 140.
123. Bushdid, C., et al., *Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli*. Science, 2014. **343**(6177): 1370-1372.
124. Buck, L. und R. Axel, *A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition*. Cell, 1991. **65**(1): 175-187.
125. Lewis, N.S., *Comparisons between mammalian and artificial olfaction based on arrays of carbon black-polymer composite vapor detectors*. Acc Chem Res, 2004. **37**(9): 663-672.
126. Smiths Detection, *The Cyranose® 320 ENose. User's Manual. Edition 6. Revision F*. 2005.
127. Fens, N., et al., *Exhaled breath analysis by electronic nose in airways disease. Established issues and key questions*. Clin Exp Allergy, 2013. **43**(7): 705-715.
128. Rock, F., N. Barsan, und U. Weimar, *Electronic nose: current status and future trends*. Chem Rev, 2008. **108**(2): 705-725.
129. Wilson, A.D. und M. Baietto, *Applications and Advances in Electronic-Nose Technologies*. Sensors, 2009. **9**(7): 5099-5148.
130. Smiths Detection, *The Practical Guide to the Cyranose 320. Part number 02-40152, Revision E*. 2005.
131. Hayden, G.F., *Olfactory diagnosis in medicine*. Postgraduate Medicine, 1980. **67**(4): 110-116.
132. Pavlou, A.K. und A.P. Turner, *Sniffing out the truth: clinical diagnosis using the electronic nose*. Clin Chem Lab Med, 2000. **38**(2): 99-112.
133. Wheelock, C.E., et al., *Application of 'omics technologies to biomarker discovery in inflammatory lung diseases*. Eur Respir J, 2013. **42**(3): 802-825.
134. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls*. J Allergy Clin Immunol, 2007. **120**(4): 856-862.
135. Fens, N., et al., *Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma*. Am J Respir Crit Care Med, 2009. **180**(11): 1076-1082.
136. Liao, Y.-H., et al., *Machine Learning Methods Applied to Predict Ventilator-Associated Pneumonia with Pseudomonas aeruginosa Infection via Sensor Array of Electronic Nose in Intensive Care Unit*. Sensors, 2019. **19**(8): 1866.

137. Suarez-Cuartin, G., et al., *Identification of Pseudomonas aeruginosa and airway bacterial colonization by an electronic nose in bronchiectasis*. Respir Med, 2018. **136**: 111-117.
138. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD*. Lung Cancer, 2009. **64**(2): 166-170.
139. Bikov, A., et al., *Expiratory flow rate, breath hold and anatomic dead space influence electronic nose ability to detect lung cancer*. BMC Pulm Med, 2014. **14**: 202.
140. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose distinguishes exhaled breath of patients with Malignant Pleural Mesothelioma from controls*. Lung Cancer, 2012. **75**(3): 326-331.
141. van de Goor, R., et al., *Training and Validating a Portable Electronic Nose for Lung Cancer Screening*. J Thorac Oncol, 2018. **13**(5): 676-681.
142. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose discriminates exhaled breath of patients with untreated pulmonary sarcoidosis from controls*. Respir Med, 2013. **107**(7): 1073-1078.
143. Paff, T., et al., *Exhaled molecular profiles in the assessment of cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia*. J Cyst Fibros, 2013. **12**(5): 454-460.
144. Hofbauer, J., et al., *Analyse der Ausatemluft mittels Elektronischer Nase bei Patienten mit Diabetes mellitus*. Pneumologie, 2010. **64**(S 03): V266.
145. Timms, C., P.S. Thomas, und D.H. Yates, *Detection of gastro-oesophageal reflux disease (GORD) in patients with obstructive lung disease using exhaled breath profiling*. J Breath Res, 2012. **6**(1): 016003.
146. Dragonieri, S., et al., *An electronic nose may sniff out amyotrophic lateral sclerosis*. Respir Physiol Neurobiol, 2016. **232**: 22-25.
147. Brekelmans, M.P., et al., *Smelling the Diagnosis: The Electronic Nose as Diagnostic Tool in Inflammatory Arthritis. A Case-Reference Study*. PLoS One, 2016. **11**(3): e0151715.
148. Tiele, A., et al., *Breath Analysis Using eNose and Ion Mobility Technology to Diagnose Inflammatory Bowel Disease—A Pilot Study*. Biosensors, 2019. **9**(2): 55.
149. De Vincentis, A., et al., *Breath-print analysis by e-nose for classifying and monitoring chronic liver disease: a proof-of-concept study*. Sci Rep, 2016. **6**: 25337.
150. Arasaradnam, R.P., et al., *Breathomics--exhaled volatile organic compound analysis to detect hepatic encephalopathy: a pilot study*. J Breath Res, 2016. **10**(1): 016012.
151. Buszewski, B., et al., *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*. Biomedical Chromatography, 2007. **21**(6): 553-566.
152. Olopade, C.O., et al., *Exhaled pentane levels in acute asthma*. Chest, 1997. **111**(4): 862-865.
153. Larstad, M.A., et al., *Determination of ethane, pentane and isoprene in exhaled air--effects of breath-holding, flow rate and purified air*. Acta Physiol, 2007. **189**(1): 87-98.
154. Lazar, Z., et al., *Electronic nose breathprints are independent of acute changes in airway caliber in asthma*. Sensors, 2010. **10**(10): 9127-9138.

155. Neerincx, A.H., et al., *Breathomics from exhaled volatile organic compounds in pediatric asthma*. *Pediatr Pulmonol*, 2017. **52**(12): 1616-1627.
156. van der Schee, M.P., et al., *Predicting steroid responsiveness in patients with asthma using exhaled breath profiling*. *Clin Exp Allergy*, 2013. **43**(11): 1217-1225.
157. Dragonieri, S., et al., *Exhaled breath profiling by electronic nose enabled discrimination of allergic rhinitis and extrinsic asthma*. *Biomarkers*, 2019. **24**(1): 70-75.
158. Montuschi, P., et al., *Diagnostic performance of an electronic nose, fractional exhaled nitric oxide, and lung function testing in asthma*. *Chest*, 2010. **137**(4): 790-796.
159. Fens, N., et al., *External validation of exhaled breath profiling using an electronic nose in the discrimination of asthma with fixed airways obstruction and chronic obstructive pulmonary disease*. *Clin Exp Allergy*, 2011. **41**(10): 1371-1378.
160. Plaza, V., et al., *Inflammatory Asthma Phenotype Discrimination Using an Electronic Nose Breath Analyzer*. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2015. **25**(6): 431-437.
161. Brinkman, P., et al., *Identification and prospective stability of electronic nose (eNose)-derived inflammatory phenotypes in patients with severe asthma*. *J Allergy Clin Immunol*, 2019. **143**(5): 1811-1820.e1817.
162. Wagener, A.H., et al., *Exhaled Breath Profiling And Eosinophilic Airway Inflammation In Asthma - Results Of A Pilot Study*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013. **187**: A2392.
163. Brinkman, P., et al., *Exhaled breath profiles in the monitoring of loss of control and clinical recovery in asthma*. *Clin Exp Allergy*, 2017. **47**(9): 1159-1169.
164. de Vries, R., et al., *Integration of electronic nose technology with spirometry: validation of a new approach for exhaled breath analysis*. *J Breath Res*, 2015. **9**(4): 046001.
165. de Vries, R., et al., *Clinical and inflammatory phenotyping by breathomics in chronic airway diseases irrespective of the diagnostic label*. *Eur Respir J*, 2018. **51**(1): 1701817.
166. Ibrahim, B., et al., *Non-invasive phenotyping using exhaled volatile organic compounds in asthma*. *Thorax*, 2011. **66**(9): 804-809.
167. Schivo, M., et al., *A mobile instrumentation platform to distinguish airway disorders*. *J Breath Res*, 2013. **7**(1): 017113.
168. Meyer, N., et al., *Defining adult asthma endotypes by clinical features and patterns of volatile organic compounds in exhaled air*. *Respiratory Research*, 2014. **15**: 9.
169. Cavaleiro Rufo, J., et al., *Exhaled breath condensate volatilome allows sensitive diagnosis of persistent asthma*. *Allergy*, 2019. **74**: 527– 534.
170. Bannier, M., et al., *Feasibility and diagnostic accuracy of an electronic nose in children with asthma and cystic fibrosis*. *J Breath Res*, 2019. **13**(3): 036009.
171. Dallinga, J.W., et al., *Volatile organic compounds in exhaled breath as a diagnostic tool for asthma in children*. *Clin Exp Allergy*, 2010. **40**(1): 68-76.

-
172. Caldeira, M., et al., *Profiling allergic asthma volatile metabolic patterns using a headspace-solid phase microextraction/gas chromatography based methodology*. J Chromatogr A, 2011. **1218**(24): 3771-3780.
 173. Caldeira, M., et al., *Allergic asthma exhaled breath metabolome: a challenge for comprehensive two-dimensional gas chromatography*. J Chromatogr A, 2012. **1254**: 87-97.
 174. Gahleitner, F., et al., *Metabolomics pilot study to identify volatile organic compound markers of childhood asthma in exhaled breath*. Bioanalysis, 2013. **5**(18): 2239-2247.
 175. van Mastrigt, E., et al., *Exhaled breath profiling using broadband quantum cascade laser-based spectroscopy in healthy children and children with asthma and cystic fibrosis*. J Breath Res, 2016. **10**(2): 026003.
 176. van der Schee, M.P., et al., *Altered exhaled biomarker profiles in children during and after rhinovirus-induced wheeze*. Eur Respir J, 2015. **45**(2): 440-448.
 177. Smolinska, A., et al., *Profiling of volatile organic compounds in exhaled breath as a strategy to find early predictive signatures of asthma in children*. PLoS One, 2014. **9**(4): e95668.
 178. Klaassen, E.M., et al., *Exhaled biomarkers and gene expression at preschool age improve asthma prediction at 6 years of age*. Am J Respir Crit Care Med, 2015. **191**(2): 201-207.
 179. van Vliet, D., et al., *Can exhaled volatile organic compounds predict asthma exacerbations in children?* J Breath Res, 2017. **11**(1): 016016.
 180. van Vliet, D., et al., *Association between exhaled inflammatory markers and asthma control in children*. J Breath Res, 2016. **10**(1): 016014.
 181. Brinkman, P., et al., *Standard Operating Procedure; Exhaled breath collection and storage in infants for VOC-analysis by eNose and GC-MS*.
 182. Asher, M.I., et al., *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods*. Eur Respir J, 1995. **8**(3): 483-491.
 183. Beydon, N., et al., *An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **175**(12): 1304-1345.
 184. Miller, M.R., et al., *Standardisation of spirometry*. Eur Respir J, 2005. **26**(2): 319-338.
 185. Miller, M.R., et al., *General considerations for lung function testing*. Eur Respir J, 2005. **26**(1): 153-161.
 186. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018; <http://www.R-project.org/>.
 187. RStudio Team. *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, Inc., Boston, MA. 2015; <http://www.rstudio.com/>.
 188. Clark, N.R. und A. Ma'ayan, *Introduction to Statistical Methods to Analyze Large Data Sets: Principal Components Analysis*. Sci Signal, 2011. **4**(190): tr3.
 189. Scott, S.M., D. James, und Z. Ali, *Data analysis for electronic nose systems*. Microchimica Acta, 2006. **156**(3): 183-207.

190. Brinkman, P., et al., *Unbiased clustering of children with asthma or pre-school wheeze using the U-BIOPRED electronic nose platform*. European Respiratory Journal, 2014. **44**(Suppl 58): 431.
191. van der Schee, M.P., et al., *Standard Operating Procedure; Exhaled breath collection for breathprint analysis by Electronic Nose*.
192. Maciejak, T.R., et al., *Multi-sensor odour detection and measurement of polluted food*. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2003. **53**(1s): 45-48.
193. Sterk, P.J., *Modern Inflammatory Phenotyping of Asthma: Breathomics is Here to Stay*. Am J Respir Crit Care Med, 2019: [Epub ahead of print].
194. Horvath, I., et al., *A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease*. Eur Respir J, 2017. **49**(4): 1600965.
195. Breathe Free. [Zugriff am 10.05.2019]; <http://www.breathe-free.org/>.
196. Bikov, A., et al., *Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry*. BMC Pulm Med, 2013. **13**: 43.
197. King, J., et al., *A modeling-based evaluation of isothermal rebreathing for breath gas analyses of highly soluble volatile organic compounds*. J Breath Res, 2012. **6**(1): 016005.
198. Miekisch, W., et al., *Impact of sampling procedures on the results of breath analysis*. J Breath Res, 2008. **2**(2): 026007.
199. Schubert, J.K., et al., *CO₂-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients*. Journal of Applied Physiology, 2001. **90**(2): 486-492.
200. Hakim, M., et al., *Diagnosis of head-and-neck cancer from exhaled breath*. Br J Cancer, 2011. **104**(10): 1649-1655.
201. Risby, T.H. und S.S. Sehnert, *Clinical application of breath biomarkers of oxidative stress status*. Free Radic Biol Med, 1999. **27**(11-12): 1182-1192.
202. Bikov, A., Z. Lazar, und I. Horvath, *Established methodological issues in electronic nose research: how far are we from using these instruments in clinical settings of breath analysis?* J Breath Res, 2015. **9**(3): 034001.
203. Koczulla, R., et al., *Vergleich von vier baugleichen elektronischen Nasen und drei Messaufbauten*. Pneumologie, 2011. **65**(8): 465-470.
204. Bessa, V., et al., *Detection of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by ion mobility spectrometry*. International Journal for Ion Mobility Spectrometry, 2011. **14**(1): 7-13.
205. Davison, B., et al., *Cut-Induced VOC Emissions from Agricultural Grasslands*. Plant Biol, 2007. **9**(S 01): e60-e68.
206. Ulanowska, A., et al., *The application of statistical methods using VOCs to identify patients with lung cancer*. J Breath Res, 2011. **5**(4): 046008.
207. Spirig, C., et al., *Eddy covariance flux measurements of biogenic VOCs during ECHO 2003 using proton transfer reaction mass spectrometry*. Atmos Chem Phys, 2005. **5**(2): 465-481.
208. Grover, W.H., M.G. von Muhlen, und S.R. Manalis, *Teflon films for chemically-inert microfluidic valves and pumps*. Lab on a Chip, 2008. **8**(6): 913-918.

-
209. Rosias, P.P., et al., *Breath condenser coatings affect measurement of biomarkers in exhaled breath condensate*. Eur Respir J, 2006. **28**(5): 1036-1041.
 210. Mochalski, P., et al., *Suitability of different polymer bags for storage of volatile sulphur compounds relevant to breath analysis*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009. **877**(3): 189-196.
 211. Kim, Y.H., et al., *Comparison of storage stability of odorous VOCs in polyester aluminum and polyvinyl fluoride Tedlar(R) bags*. Anal Chim Acta, 2012. **712**: 162-167.
 212. Cheng, Z.J., et al., *An electronic nose in the discrimination of breath from smokers and non-smokers: a model for toxin exposure*. J Breath Res, 2009. **3**(3): 036003.
 213. Beauchamp, J., et al., *On the use of Tedlar(R) bags for breath-gas sampling and analysis*. J Breath Res, 2008. **2**(4): 046001.
 214. Liotino, V., et al., *Influence of circadian rhythm on exhaled breath profiling by electronic nose*. J Biol Regul Homeost Agents, 2018. **32**(5): 1261-1265.
 215. Hattesoht, A.D., et al., *Discrimination between COPD patients with and without alpha 1-antitrypsin deficiency using an electronic nose*. Respirology, 2011. **16**(8): 1258-1264.
 216. Lai, S.Y., et al., *Identification of upper respiratory bacterial pathogens with the electronic nose*. Laryngoscope, 2002. **112**(6): 975-979.
 217. Bos, L.D., M.J. Schultz, und P.J. Sterk, *Exhaled breath profiling for diagnosing acute respiratory distress syndrome*. BMC Pulmonary Medicine, 2014. **14**(1): 72.
 218. Knobloch, H., et al., *Methodological variation in headspace analysis of liquid samples using electronic nose*. Sensors and Actuators B: Chemical, 2009. **139**(2): 353-360.
 219. Incalzi, R.A., et al., *Reproducibility and respiratory function correlates of exhaled breath fingerprint in chronic obstructive pulmonary disease*. PLoS One, 2012. **7**(10): e45396.
 220. Kovacs, D., et al., *Follow up of lung transplant recipients using an electronic nose*. J Breath Res, 2013. **7**(1): 017117.
 221. Tarnoki, D.L., et al., *Lack of heritability of exhaled volatile compound pattern: an electronic nose twin study*. J Breath Res, 2014. **8**(1): 016001.
 222. Kischkel, S., et al., *Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects--confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms*. Clin Chim Acta, 2010. **411**(21-22): 1637-1644.
 223. Baranska, A., et al., *Profile of volatile organic compounds in exhaled breath changes as a result of gluten-free diet*. J Breath Res, 2013. **7**(3): 037104.
 224. Gaida, A., et al., *A dual center study to compare breath volatile organic compounds from smokers and non-smokers with and without COPD*. J Breath Res, 2016. **10**(2): 026006.
 225. Bikov, A., et al., *Exercise changes volatiles in exhaled breath assessed by an electronic nose*. Acta Physiol Hung, 2011. **98**(3): 321-328.
 226. Fens, N., et al., *Breathomics as a diagnostic tool for pulmonary embolism*. J Thromb Haemost, 2010. **8**(12): 2831-2833.

-
227. Dragonieri, S., et al., *The ovarian cycle may influence the exhaled volatile organic compound profile analyzed by an electronic nose*. J Breath Res, 2018. **12**(2): 021002.
228. Dragonieri, S., et al., *Influence of age and gender on the profile of exhaled volatile organic compounds analyzed by an electronic nose*. J Bras Pneumol, 2016. **42**(2): 143-145.
229. Turner, C., P. Spanel, und D. Smith, *A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS*. Physiol Meas, 2006. **27**(4): 321-337.
230. Seet, R.C., et al., *Biomarkers of oxidative damage in cigarette smokers: which biomarkers might reflect acute versus chronic oxidative stress?* Free Radic Biol Med, 2011. **50**(12): 1787-1793.
231. Adcock, I.M., G. Caramori, und P.J. Barnes, *Chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: new molecular insights*. Respiration, 2011. **81**(4): 265-284.
232. Filipiak, W., et al., *Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors, smoking habits and exposure to air pollutants*. J Breath Res, 2012. **6**(3): 036008.
233. Strzelak, A., et al., *Tobacco Smoke Induces and Alters Immune Responses in the Lung Triggering Inflammation, Allergy, Asthma and Other Lung Diseases: A Mechanistic Review*. Int J Environ Res Public Health, 2018. **15**(5): 1033.
234. Leopold, J.H., et al., *Comparison of classification methods in breath analysis by electronic nose*. J Breath Res, 2015. **9**(4): 046002.
235. Smolinska, A., et al., *Current breathomics--a review on data pre-processing techniques and machine learning in metabolomics breath analysis*. J Breath Res, 2014. **8**(2): 027105.
236. Boots, A.W., et al., *Exhaled Molecular Fingerprinting in Diagnosis and Monitoring: Validating Volatile Promises*. Trends Mol Med, 2015. **21**(10): 633-644.
237. Wentura, D. und M. Pospeschill, *Multivariate Datenanalyse*. 2015, Wiesbaden: Springer. 242.
238. van der Schee, M.P. und N. Fens, *Standard Operating Procedure - Data Analysis eNose*. 2011.
239. Saglani, S., et al., *Early detection of airway wall remodeling and eosinophilic inflammation in preschool wheezers*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **176**(9): 858-864.
240. Broadhurst, D.I. und D.B. Kell, *Statistical strategies for avoiding false discoveries in metabolomics and related experiments*. Metabolomics, 2006. **2**(4): 171-196.
241. Santini, G., et al., *Electronic Nose and Exhaled Breath NMR-based Metabolomics Applications in Airways Disease*. Curr Top Med Chem, 2016. **16**(14): 1610-1630.
242. van Mastrigt, E., J.C. de Jongste, und M.W. Pijnenburg, *The analysis of volatile organic compounds in exhaled breath and biomarkers in exhaled breath condensate in children - clinical tools or scientific toys?* Clin Exp Allergy, 2015. **45**(7): 1170-1188.
243. Van Sickle, D., et al., *Variability in the labeling of asthma among pediatricians*. PLoS One, 2013. **8**(4): e62398.

-
244. Basanta, M., et al., *Methodology validation, intra-subject reproducibility and stability of exhaled volatile organic compounds*. J Breath Res, 2012. **6**(2): 026002.
 245. Bhatt, J.M. und A.R. Smyth, *The management of pre-school wheeze*. Paediatr Respir Rev, 2011. **12**(1): 70-77.
 246. Davies, B.R. und W.D. Carroll, *The use of inhaled corticosteroids in the wheezy under 5-year-old child*. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2011. **96**(2): 61-66.
 247. Le Souëf, P., *Viral infections in wheezing disorders*. European Respiratory Review, 2018. **27**(147): 170133.
 248. Raedler, D. und B. Schaub, *Immune mechanisms and development of childhood asthma*. Lancet Respir Med, 2014. **2**(8): 647-656.
 249. Holt, P.G., J.W. Upham, und P.D. Sly, *Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: Implications for development of asthma prevention strategies*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2005. **116**(1): 16-24.
 250. Rothers, J., et al., *Maternal Cytokine Profiles during Pregnancy Predict Asthma in Children of Mothers without Asthma*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2018. **59**(5): 592-600.
 251. Wassall, H.J., et al., *A Comparison of Virus-Associated and Multi-Trigger Wheeze in School Children*. Journal of Asthma, 2005. **42**(9): 737-744.
 252. Sonnappa, S., et al., *Symptom-pattern phenotype and pulmonary function in preschool wheezers*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **126**(3): 519-526.e511-517.
 253. Just, J., et al., *Wheeze phenotypes in young children have different courses during the preschool period*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2013. **111**(4): 256-261.e251.
 254. Stevenson, E.C., et al., *Bronchoalveolar lavage findings suggest two different forms of childhood asthma*. Clin Exp Allergy, 1997. **27**(9): 1027-1035.
 255. Kappelle, L. und P.L.P. Brand, *Severe episodic viral wheeze in preschool children: High risk of asthma at age 5–10 years*. Eur J Pediatr, 2012. **171**(6): 947-954.
 256. Edwards, C.A., et al., *Wheezy bronchitis in childhood: a distinct clinical entity with lifelong significance?* Chest, 2003. **124**(1): 18-24.
 257. Godden, D.J., et al., *Outcome of wheeze in childhood. Symptoms and pulmonary function 25 years later*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 1994. **149**(1): 106-112.
 258. McKean, M., et al., *An adult model of exclusive viral wheeze: inflammation in the upper and lower respiratory tracts*. Clinical & Experimental Allergy, 2003. **33**(7): 912-920.
 259. Schultz, A., et al., *The transient value of classifying preschool wheeze into episodic viral wheeze and multiple trigger wheeze*. Acta Paediatr, 2010. **99**(1): 56-60.
 260. Mortezaei, M. und T. Bingemann, *Wheeze Phenotypes in Young Children Have Different Courses During the Preschool Period*. Pediatrics, 2014. **134**(Supplement 3): S173-S174.
 261. Spycher, B.D. und C.E. Kuehni, *Asthma phenotypes in childhood: conceptual thoughts on stability and transition*. Eur Respir J, 2016. **47**(2): 362-365.

-
262. Jackson, D.J., J.E. Gern, und R.F. Lemanske, *The contributions of allergic sensitization and respiratory pathogens to asthma inception*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2016. **137**(3): 659-665.
 263. Garcia-Marcos, L. und F.D. Martinez, *Multitrigger versus episodic wheeze in toddlers: new phenotypes or severity markers?* J Allergy Clin Immunol, 2010. **126**(3): 489-490.
 264. Biagini Myers, J.M., et al., *A Pediatric Asthma Risk Score to better predict asthma development in young children*. J Allergy Clin Immunol, 2019. **143**(5): 1803-1810.
 265. Schatz, M. und L. Rosenwasser, *The allergic asthma phenotype*. J Allergy Clin Immunol Pract, 2014. **2**(6): 645-648.
 266. Humbert, M., et al., *The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences*. Immunol Today, 1999. **20**(11): 528-533.
 267. Froidure, A., et al., *Asthma phenotypes and IgE responses*. Eur Respir J, 2016. **47**(1): 304-319.
 268. Garcia, G., et al., *A Proof-of-Concept, Randomized, Controlled Trial of Omalizumab in Patients With Severe, Difficult-to-Control, Nonatopic Asthma*. Chest, 2013. **144**(2): 411-419.
 269. Turato, G., et al., *Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma*. Am J Respir Crit Care Med, 2008. **178**(5): 476-482.
 270. Johansson, S.G.O., et al., *Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004. **113**(5): 832-836.
 271. Leynaert, B., et al., *Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma: a population-based cohort*. Thorax, 2012. **67**(7): 625-631.
 272. Bodtger, U., L.K. Poulsen, und A. Linneberg, *Rhinitis symptoms and IgE sensitization as risk factors for development of later allergic rhinitis in adults*. 2006. **61**(6): 712-716.
 273. Pearce, N., J. Pekkanen, und R. Beasley, *How much asthma is really attributable to atopy?* Thorax, 1999. **54**(3): 268-272.
 274. Marinho, S., et al., *Quantification of atopy and the probability of rhinitis in preschool children: a population-based birth cohort study*. Allergy, 2007. **62**(12): 1379-1386.
 275. Wenzel, S., *Severe asthma: from characteristics to phenotypes to endotypes*. Clin Exp Allergy, 2012. **42**(5): 650-658.
 276. Chung, K.F., et al., *International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma*. 2014. **43**(2): 343-373.
 277. Bousquet, J., et al., *Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: Document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010. **126**(5): 926-938.
 278. Juniper, E.F., et al., *Asthma Control Questionnaire in children: validation, measurement properties, interpretation*. European Respiratory Journal, 2010. **36**(6): 1410-1416.

-
279. Nathan, R.A., et al., *Development of the asthma control test: A survey for assessing asthma control*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004. **113**(1): 59-65.
 280. Wang, Y., et al., *Exhaled breath VOCs are associated with nocturnal wakening in asthmatic children*. Eur Respir J, 2015. **46**(suppl 59): PA2083.
 281. Vijverberg, S., et al., *Asthmatic children that are uncontrolled despite inhaled corticosteroids have a distinct breathprint: Results of the PACMAN2 study*. Eur Respir J, 2015. **46**(suppl 59): PA3646.
 282. Delfino, R.J., et al., *Respiratory symptoms and peak expiratory flow in children with asthma in relation to volatile organic compounds in exhaled breath and ambient air*. J Expo Anal Environ Epidemiol, 2003. **13**(5): 348-363.

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

ALLIANCE	All Age Asthma Cohort
AMC	Academisch Medisch Centrum, Universität von Amsterdam
ANS	Atemnotsyndrom
Asthma	Asthma bronchiale
AUC	Fläche unterhalb der Kurve (engl. area under the curve)
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CLD	Chronische Lungenerkrankung (engl. chronic lung disease)
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (engl. chronic obstructive pulmonary disease)
CPAP	Kontinuierlich positiver Atemwegsdruck (engl. continuous positive airway pressure)
DZL	Deutsches Zentrum für Lungenforschung
eNose	Elektronische Nase (engl. electronic nose)
ERS	European Respiratory Society
EVW	Episodic viral wheeze
FEV1	Einsekundenkapazität (engl. forced expiratory volume in 1 second)
FVC	Forcierte Vitalkapazität (engl. forced vital capacity)
GINA	Global Initiative for Asthma
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
ICS	Inhalative Corticosteroide
IgE	Immunglobulin E
ISAAC	International Study of Asthma and Allergies in Childhood
KI	Konfidenzintervall
KIRA	Kinder Register Asthma, pädiatrischer Arm der ALLIANCE Kohorte des DZL
MTW	Multiple trigger wheeze
PC	Hauptkomponente (engl. principal component)
PEF	Expiratorischer Spitzenfluss (engl. peak expiratory flow)
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
SSW	Schwangerschaftswoche
U	Enzymeinheit (engl. unit)
VOC	Flüchtige organische Verbindung (engl. volatile organic compound)

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zusammenhang zwischen Asthma bzw. <i>wheeze</i> , Phänotypen und Endotypen	6
Abbildung 2: Herkunft von VOCs in der Ausatemluft.....	11
Abbildung 3: <i>Smellprint</i> der Ausatemluft eines gesunden Erwachsenen	12
Abbildung 4: Überblick über die möglichen Methoden der VOC-Analyse	13
Abbildung 5: Setup zur Gewinnung von Ausatemluft und Luftfluss während der Sammlung	24
Abbildung 6: Verbindung der Tedlar®-Beutel mit der eNose zur Analyse.....	28
Abbildung 7: Charakteristische Kurve der Sensorsignale in Echtzeit.....	29
Abbildung 8: Setup zur Materialgewinnung	31
Abbildung 9: Setup zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumluft	32
Abbildung 10: Graphische Darstellung der Sensorrohdaten aller Kinder als Boxplots.	41
Abbildung 11: Rohdaten der Sensorsignale aller Kinder nach Entfernung der wasserempfindlichen Sensoren 5, 6, 23 und 31	42
Abbildung 12: Sensorsignale der Fälle und der gesunden Kontrollen im Vergleich	43
Abbildung 13: Sensorsignale von Asthmatikern und gesunden Kontrollen im Vergleich	44
Abbildung 14: Sensorsignale von Kindern mit <i>wheeze</i> und gesunden Kontrollen im Vergleich.....	45
Abbildung 15: Sensorsignale von Kindern mit aktuellem <i>episodic viral wheeze</i> bzw. <i>multi-trigger wheeze</i> im Vergleich	45
Abbildung 16: Sensorsignale von Jungen und Mädchen im Vergleich	46
Abbildung 17: Korrelation der Sensorsignale mit dem Alter am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24.....	47
Abbildung 18: Korrelation der Sensorsignale mit dem Gewicht am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24.....	48
Abbildung 19: Keine nachweisbare signifikante Korrelation der Sensorsignale mit dem Gewicht nach Altersadjustierung der Sensorrohdaten am Beispiel der Sensoren 3, 10 und 24	50

Abbildung 20: Graphische Darstellung der individuellen Werte der ersten fünf Hauptkomponenten von Fällen und gesunden Kontrollen	52
Abbildung 21: Graphische Darstellung der individuellen Werte der zweiten Hauptkomponente von Fällen und gesunden Kontrollen	53
Abbildung 22: Ladungsmatrix für die zweite Hauptkomponente	54
Abbildung 23: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve für die Unterscheidung zwischen Fällen und gesunden Kontrollen unter Verwendung der zweiten Hauptkomponente	55
Abbildung 24: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und zweiten Hauptkomponenten für Fälle und gesunde Kontrollen.....	56
Abbildung 25: Hauptkomponente 2, Einfluss des Geschlechts und Korrelation mit dem Gewicht.....	57
Abbildung 26: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Fälle versus gesunde Kontrollen.....	58
Abbildung 27: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Fälle und gesunde Kontrollen nach Paarbildung	59
Abbildung 28: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker und gesunde Kontrollen	60
Abbildung 29: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und der fünften Hauptkomponente für Kinder mit <i>episodic viral wheeze</i> bzw. <i>multi-trigger wheeze</i>	62
Abbildung 30: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: <i>episodic viral wheeze</i> versus <i>multi-trigger wheeze</i>	63
Abbildung 31: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und der vierten Hauptkomponenten für Kinder mit <i>episodic viral wheeze</i> bzw. <i>multi-trigger wheeze</i> unter sechs Jahren	64
Abbildung 32: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: <i>episodic viral wheeze</i> versus <i>multi-trigger wheeze</i> , unter sechs Jahren	65
Abbildung 33: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Kinder mit atopischem bzw. nicht-atopischem Asthma	66
Abbildung 34: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Kinder mit atopischem bzw. nicht-atopischem <i>wheeze</i>	67

Abbildung 35: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker mit bzw. ohne ICS-Therapie	68
Abbildung 36: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und vierten Hauptkomponente für Kinder mit Tiffeneau-Index < 75% bzw. > 75%.....	69
Abbildung 37: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Kinder mit Tiffeneau-Index < 75% versus Tiffeneau-Index > 75%...	70
Abbildung 38: Zweidimensionale Streudiagramme der ersten fünf Hauptkomponenten für Asthmatiker mit kontrolliertem bzw. teilweise kontrolliertem/unkontrolliertem Grad der Asthmakontrolle	71
Abbildung 39: Zweidimensionales Streudiagramm der ersten und vierten Hauptkomponente für Kinder aus einem Raucher- bzw. Nichtraucherhaushalt	72
Abbildung 40: Receiver-Operating-Characteristic-Kurve nach Leave-One-Out-Kreuzvalidierung: Kinder aus einem Raucherhaushalt versus Kinder aus einem Nichtraucherhaushalt	73

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vor- und Nachteile von VOC-Analysen mittels eNose bzw. GC-MS	14
Tabelle 2: Übersicht der <i>breathomics</i> Studien zu Asthma und <i>wheeze</i> im Kindesalter	17
Tabelle 3: Studienzentren und Partner der KIRA-Studie	18
Tabelle 4: Einzelteile des Setups zur Materialgewinnung.....	32
Tabelle 5: Einzelteile des Setups zur Gewinnung der VOC-gefilterten Raumluft.....	33
Tabelle 6: Verwendete Software	33
Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien und Hersteller.....	34
Tabelle 8: Definitionen der Studiengruppen	36
Tabelle 9: Demographische Daten der Studienpopulation	38
Tabelle 10: Übersicht über die in dieser Arbeit erfolgten Analysen und Gruppenvergleiche	40
Tabelle 11: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Fällen und gesunden Kontrollen	42
Tabelle 12: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Asthmatikern und gesunden Kontrollen	43
Tabelle 13: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit <i>wheeze</i> und gesunden Kontrollen	44
Tabelle 14: Korrelation der Sensorsignale mit dem Alter.....	47
Tabelle 15: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit Asthma und von gesunden Kontrollen nach Altersadjustierung.....	49
Tabelle 16: Welch-Test auf Unterschiede in den Sensorsignalen von Kindern mit <i>wheeze</i> und von gesunden Kontrollen nach Altersadjustierung.	49
Tabelle 17: Eigenwerte und Varianz der Hauptkomponenten.....	51
Tabelle 18: Welch-Test auf Unterschiede in den Hauptkomponenten von Fällen und gesunden Kontrollen	52

8.4 Ergebnisformular



Arbeitsanweisung für Messung von VOCs in exhalierter
Atemluft mittels elektronischer Nase (eNose) in
Ruheatmung

Appendix A - Ergebnisformular

Allgemein

Datum	
Zeit	
ID des Probanden	
Letze Mahlzeit	
Letztes Getränk	
Letzte Zigarette	
Medikation	

Spezifikationen der Messung

Messung durchgeführt von	
Zeitpunkt N ₂ -Spülung der Tedlar-Beutel	
Zeitpunkt Vorspülen der Cyranose [®]	
Zeitpunkt Befüllung Baseline	
Zeitpunkt der Sammlung Probandenprobe	
Zeitpunkt simulierte Messung	
Zeitpunkt der Analyse	
Analyse erfolgreich	

Spezifikationen der Analyse (Cyranose[®])

Name der Methode	
Name der Klasse	
Nummer innerhalb der Klasse	

Danksagung

Es ist mir wichtig, mich an dieser Stelle bei allen zu bedanken, die durch ihre unermüdliche Unterstützung zu dem Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich mich herzlich bei meiner Doktormutter, Frau Prof. Dr. Dr. h.c. Erika von Mutius, für die Möglichkeit, in ihrer Arbeitsgruppe zu promovieren, bedanken. Vielen Dank für das in mich gesetzte Vertrauen, die konstruktiven Vorschläge und die stets schnelle und großzügige Bereitstellung personeller und materieller Unterstützung.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Oliver Fuchs für die intensive Unterstützung bei der Etablierung der Methoden in München, die immer freundliche, schnelle und geduldige Beantwortung meiner Fragen und all die Hilfestellungen und Anregungen.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Nicole Maison für ihre Hilfsbereitschaft und ihre guten Ratschläge insbesondere während der Auswertung und des Schreibens meiner Dissertation.

Ebenso möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. Sabina Illi für die Unterstützung bei allen statistischen Fragestellungen, ihre Geduld und die hilfreichen Vorschläge bedanken.

Vielen Dank auch an das gesamte Team der KIRA-Studie in München für die herzliche Aufnahme, die kollegiale Zusammenarbeit, die zahlreichen Gespräche und die immer vorhandene Hilfsbereitschaft.

Genauso möchte ich dem KIRA-Team in Lübeck für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung bei der statistischen Auswertung danken.

Mein Dank gilt zudem Paul Brinkman und Prof Dr. Peter Sterk in Amsterdam, die uns so großzügig und ausführlich in die von ihnen entwickelten Methoden eingeführt haben.

Nicht zuletzt gilt mein ganz besonderer Dank meiner Familie und meinen Freundinnen und Freunden, die mich durch das gesamte Studium und durch diese Arbeit begleitet haben und die immer an mich glauben, mich aufbauen, ermutigen und unterstützen.

Vielen Dank!



Eidesstattliche Versicherung

Samija, Lea Sophia

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Charakterisierung obstruktiver Atemwegserkrankungen im Kindesalter im Vergleich zu gesunden Kontrollen anhand der Messung flüchtiger organischer Verbindungen in der Ausatemluft mittels einer elektronischen Nase (eNose)

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 07.08.2020

Ort, Datum

Lea Samija

Unterschrift Doktorandin/Doktorand